

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pierre DELAUNEY

*Assistant à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien des Dispensaires de l'Assistance Publique*

1^{re} THESE. — Action, sur les microbes, des substances phénoliques. —
Influence de la constitution chimique.

Etude particulière de l'action antiseptique des acide
aldéhyde et alcool salicyliques et de leurs dérivés
mono et dihalogénés.

2^e THESE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

MM. PORTIER, *Président.*

M. JAVILLIER

P. COMBES

} *Examineurs.*

R. PICHON ET R. DURAND-AUZIAS

EDITEURS

20, Rue Soufflot, PARIS (V^e)

1936

Action, sur les microbes, des substances phénoliques
Influence de la constitution chimique

**Etude particulière de l'action antiseptique des acide
aldéhyde et alcool salicyliques et de leurs dérivés mono
et dihalogénés**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552211_0011

Série A. N° 1644

N° d'ordre : 2510

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Pierre DELAUNEY

*Assistant à la Faculté de Pharmacie de Paris
Pharmacien des Dispensaires de l'Assistance Publique*

1^{re} THESE. — Action, sur les microbes, des substances phénoliques. —
Influence de la constitution chimique.

Etude particulière de l'action antiseptique des acide
aldéhyde et alcool salicyliques et de leurs dérivés
mono et dihalogénés.

2^e THESE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le

devant la Commission d'examen.

MM. PORTIER, *Président.*

M. JAVILLIER }
P. COMBES } *Examineurs.*

R. PICHON ET R. DURAND-AUZIAS

EDITEURS

20, Rue Soufflot, PARIS (V^e)

1936

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire M. MOLLIARD.
Doyen C. MAURAIN, Professeur, Physique du Globe.

Professeurs honoraires ..	{	H. LE CHATELIER.	Léon BRILLOUIN.	AUGER.
		H. LEBESGUE.	COURSAT.	BLAISE.
		A. FERNBACH.	WALLERANT.	DANGEARD.
		A. LEDUC.	GUILLET.	JANET.
		Emile PICARD.	PÉCHARD.	LESPIEAU.
		Rémy PERRIER.	FREUNDLER.	MARCHIS.
				VESSIOT.

PROFESSEURS

G. BERTRAND ...	T Chimie biologique.	L. JOLEAUD	Paléontologie.
M. CAULLERY ...	T Zoologie (Evolution des êtres organisés).	ROBERT-LÉVY ...	Zoologie.
G. URBAIN	T Chimie générale.	F. PICARD	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
Emile BOREL ...	T Calcul des probabilités et Physique mathématique.	Henri VILLAT ...	T Mécanique des fluides et applications.
Jean PERRIN	T Chimie physique.	Ch. JACOB	T Géologie.
H. ABRAHAM	T Physique.	P. PASCAL	T Chimie minérale.
E. CARTAN	T Géométrie supérieure.	M. FRÉCHET	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique
M. MOLLIARD	T Physiologie végétale.	E. ESCLANGON ...	T Astronomie.
L. LAPICQUE	T Physiologie générale.	M ^{me} RAMART-LUCAS ..	T Chimie organique.
A. COTTON	T Recherches physiques.	H. BÉGHIN	T Mécanique physique et expérimentale.
J. DRACH	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	FOCH	Mécanique expérimentale des fluides.
Charles FABRY ..	T Enseignement de Physique.	PAUTHENIER	Physique (P.C.B.).
Charles PÉREZ ...	T Zoologie.	De BROGLIE	T Théories physiques.
Léon BERTRAND ..	T Géologie structurale et géologie appliquée.	CHRÉTIEN	Optique appliquée.
P. PORTIER	T Physiologie comparée.	P. JOB	Chimie générale.
E. RABAUD	T Biologie expérimentale.	LABROUSTE	Physique du Globe.
M. GUICHARD	Chimie minérale.	PRENANT	Zoologie.
Paul MONTEL ...	T Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
P. WINTREBERT ..	T Anatomie et histologie comparées.	BOHN	Zoologie (P.C.B.).
L. BLARINGHEM ..	T Botanique.	COMBES	Botanique (P.C.B.).
O. DUBOSQ	T Biologie maritime.	GARNIER	T Mathématiques générales.
G. JULIA	T Mécanique analytique et Mécanique céleste.	PÉRÈS	Mécanique théorique des fluides.
C. MAUGUIN	T Minéralogie.	HACKSPILL	Chimie (P.C.B.).
A. MICHEL-LÉVY ..	T Pétrographie.	LAUGIER	Physiologie générale.
H. BÉNARD	T Mécanique expérimentale des fluides.	TOUSSAINT	Technique Aéronautique
A. DENJOY	T Application de l'analyse à la Géométrie.	M. CURIE	Physique (P.C.B.).
L. LUTAUD	T Géographie physique et géologie dynamique.	G. RIBAUD	T Hautes températures.
Eugène BLOCH ...	T Physique théorique et physique céleste.	CHAZY	T Mécanique rationnelle
G. BRUHAT	Physique.	GAULT	Chimie (P.C.B.).
E. DARMOIS	Enseignement de Physique.	CROZE	Recherches physiques.
A. DEBIERNE	T Physique générale et radio-activité.	DUPONT	T Théories chimiques
A. DUFOUR	T Physique (P.C.B.).	LANQUINE	Géologie.
L. DUNOYER	Optique appliquée.	VALIRON	Mathématiques.
A. GUILLIERMOND.	T Botanique.	BARRABÉ	Géologie structurale et géologie appliquée.
M. JAVILLIER ...	Chimie biologique.	MILLOT	Zoologie (P.C.B.).
		F. PERRIN	Théories physiques.
		VAVON	Chimie organique.
		G. DARMOIS	Calcul des Probabilités et Physique-Mathématique.

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire D. TOMBECK.



A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA FEMME ET A MON FILS

A MA MÈRE

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RADAIS

DOYEN HONORAIRE DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR JEAN REGNIER

PROFESSEUR AGRÉGÉ PRÈS LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS
PHARMACIEN DES HÔPITAUX

*Témoignage de très vif remerciement,
de fidèle amitié et d'affectueux dévouement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. PORTIER

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES
ET A L'INSTITUT OCÉANOGRAPHIQUE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. JAVILLIER

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES
ET AU CONSERVATOIRE DES ARTS ET MÉTIERS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. COMBES

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES

*Qui ont bien voulu faire partie du
jury de cette thèse.*

*Hommage de mon profond respect et
de ma reconnaissance pour leur ensei-
gnement.*

AVANT-PROPOS

Depuis la démonstration du rôle nuisible des microorganismes, soit comme agents pathogènes, soit comme agents d'altération des matières alimentaires, préparations médicamenteuses, produits techniques fermentescibles, etc., un nombre considérable de travaux a été publié en vue de mieux connaître cette nocivité, afin d'être en mesure de la combattre efficacement.

Cette lutte contre les microorganismes a donné à l'étude des antiseptiques une importance de plus en plus grande, en sorte que tous les groupes de corps actuellement connus, aussi bien dans la série minérale que dans la série organique, ont été examinés au point de vue de leur action antimicrobienne.

On a été naturellement amené à rechercher des corps doués d'un grand pouvoir de destruction vis-à-vis des germes nuisibles, mais qui ne risquent pas en même temps de présenter, au point de vue toxicité notamment, d'inconvénients graves pour l'homme ou, dans des cas spéciaux, pour les animaux supérieurs. Un désinfectant doit en effet, d'une part, être capable de détruire tous les microorganismes présents dans un milieu donné dans le temps le plus court et à la dose la plus faible possibles, d'autre part, s'il doit être employé soit pour l'antisepsie externe (traitement des plaies...), soit pour l'antisepsie interne (en injections), soit comme agent de conservation susceptible d'être introduit dans l'organisme par le tube digestif, il lui faut être dépourvu de propriétés irritantes, caustiques ou toxiques pour les cellules ou les tissus avec lesquels il se trouvera en contact.

L'appréciation de la valeur antiseptique des substances chimiques a conduit parallèlement à étudier méthodiquement les

conditions de leur action sur les microorganismes : recherches théoriques ayant en vue de connaître de manière approfondie les processus de pénétration et de fixation de ces substances dans la cellule microbienne, recherches pratiques ayant pour but d'établir des méthodes exactes pour la détermination de leur pouvoir antimicrobien.

Au point de vue pratique, si l'on considère l'action sur les microorganismes d'une substance capable de les influencer défavorablement, il est évident que cette action pourra s'exercer à des degrés variables suivant les doses employées et les conditions réalisées. Il y a lieu en particulier de distinguer dans cette action deux stades principaux.

Ou bien la dose de la substance antiseptique sera seulement capable d'empêcher le développement des germes dans un milieu favorable, développement qui pourrait reprendre ultérieurement, si ces germes se trouvaient transplantés dans un autre milieu exempt d'antiseptique et réalisant les conditions optima : l'action ainsi exercée sur les microbes est nommée *antigénétique* et la *dose antigénétique* est représentée par la quantité de la substance qu'il suffit d'ajouter à un litre de bouillon de culture pour y empêcher le développement d'une quantité connue de germes dans des conditions favorables déterminées.

Ou bien la quantité de produit mise en œuvre sera suffisante pour déterminer la mort de tous les microorganismes présents dans un milieu donné et empêcher par conséquent toute possibilité d'une reprise ultérieure du développement : on dira, dans ce cas, que le corps a exercé une action *antibiotique* et la *dose antibiotique* sera représentée par la quantité du produit qu'il suffit d'ajouter à un litre d'un milieu déterminé pour tuer en un temps donné une quantité connue de germes.

On voit par ces définitions que la caractéristique principale

d'un désinfectant, qui lui donne véritablement sa valeur pratique, est son pouvoir antibiotique. Toutefois l'action antigénétique n'en est pas moins importante à évaluer, car elle peut jouer un rôle important au cours de la détermination de la valeur antibiotique en entachant d'erreur les résultats obtenus. D'autre part, lorsqu'un produit doit être employé non comme désinfectant à proprement parler mais comme agent de conservation, c'est son pouvoir antigénétique qui entre principalement en ligne de compte.

Il est à noter d'ailleurs que l'on n'observe pas forcément de parallélisme entre l'action antigénétique et l'action antibiotique. Un corps qui se montrera très antigénétique pourra parfaitement n'être que faiblement antibiotique, ou inversement. Nous en trouverons des exemples au cours de ce travail.

Dans l'étude des désinfectants on devra donc déterminer les doses antigénétiques et les doses antibiotiques, en utilisant des méthodes bien étudiées et offrant le maximum de garanties contre toutes les causes d'erreur possibles.

Diverses méthodes ont été proposées dans le but d'établir la valeur antimicrobienne des substances chimiques et de les comparer entre elles. Si la plupart de ces méthodes ne sont pas à l'abri de toute critique, elles n'en ont pas moins permis de découvrir dans la liste sans cesse accrue des produits minéraux et surtout organiques, un nombre assez considérable de corps susceptibles d'être utilisés comme désinfectants.

Parmi les corps organiques en particulier, il s'est trouvé de nombreux produits doués de propriétés microbicides. Les différentes fonctions de la chimie organique se sont toutefois montrées d'importance très inégale à cet égard. Tandis que certaines fonctions, telle la fonction carbure, ne comportent qu'un très petit nombre de corps jouissant d'un pouvoir antiseptique appréciable, d'autres au contraire renferment des corps possédant vis-à-vis des microorganismes une toxicité remarquable. Parmi ces fonctions une place importante revient à la fonction phénol, en sorte qu'un grand nombre de

désinfectants organiques, et non les moins actifs, sont des substances contenant dans leur molécule un ou plusieurs oxhydryles phénoliques.

La possibilité de modifier un noyau organique soit en y introduisant de nouveaux substituants, soit en faisant varier l'emplacement des substitutions, fournit par ailleurs la faculté d'augmenter encore l'activité antimicrobienne due à la présence de la fonction phénol. C'est ainsi en particulier que l'on a souvent obtenu un renforcement du pouvoir désinfectant en adjoignant à l'oxhydryle phénolique un ou plusieurs atomes d'éléments halogènes.

On voit donc l'intérêt que présente l'étude de séries complètes de corps.

Les recherches qui vont être exposées dans ce travail ont porté sur les dérivés halogénés des acide, aldéhyde et alcool salicyliques. Disposant d'une série complète de ces corps préparés au cours d'un travail antérieur ⁽¹⁾, nous nous sommes trouvé ainsi amené à étudier consécutivement leur action sur les microorganismes.

Après avoir déterminé à nouveau la valeur antimicrobienne du phénol, nous avons donc pris comme noyau fondamental le noyau salicylique : acide, aldéhyde et alcool salicyliques. Nous nous sommes ensuite plus spécialement attaché à établir l'influence de l'introduction d'un, puis de deux atomes d'éléments halogènes dans ce noyau salicylique. Les corps étudiés présentaient leurs substitutions halogénées dans les positions 5- et 3-5-.

Ce travail est divisé en trois parties.

(1) Synthèse biochimique d'un glucoside halogéné: le 5-chlorosalicylglucoside- β ; C. R. Ac. des Sc., 183, 1926, p. 990. — Synthèse biochimique du 5-bromosalicylglucoside- β . Essai de synthèse du 3-5-dichlorosalicylglucoside- β ; C. R. Ac. des Sc., 185, 1927, p. 1530. — Synthèse biochimique du 5-iodosalicylglucoside- β ; C. R. Ac. des Sc., 191, 1930, p. 57. — Propriétés des 5-chloro-, 5-bromo-, 5-iodosalicylglucosides- β ; C. R. Ac. des Sc., 197, 1933, p. 70.

Dans la PREMIÈRE PARTIE, d'ordre exclusivement chimique, nous ferons un historique des différentes méthodes proposées pour la préparation des dérivés mono et dihalogénés de la série salicylique et nous décrirons avec quelque détail celles que nous avons choisies et dont nous nous sommes servi.

Le *premier chapitre* est consacré à la préparation des acides salicyliques halogénés et de leurs esters méthyliques :

Acide 5-chlorosalicylique et 5-chlorosalicylate de méthyle.

Acide 5-bromosalicylique et 5-bromosalicylate de méthyle.

Acide 5-iodosalicylique et 5-iodosalicylate de méthyle.

Acide 3-5-dichlorosalicylique et 3-5-dichlorosalicylate de méthyle.

Acide 3-5-dibromosalicylique et 3-5-dibromosalicylate de méthyle.

Acide 3-5-diiodosalicylique et 3-5-diiodosalicylate de méthyle.

Le *deuxième chapitre* est consacré à la préparation des aldéhydes salicyliques halogénés :

Aldéhyde 5-chlorosalicylique.

Aldéhyde 5-bromosalicylique.

Aldéhyde 5-iodosalicylique.

Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique.

Aldéhyde 3-5-dibromosalicylique.

Aldéhyde 3-5-diiodosalicylique.

Le *troisième chapitre* est consacré à la préparation du saligénol et de ses dérivés halogénés :

Saligénol.

5-chlorosaligénol.

5-bromosaligénol.

5-iodosaligénol.

3-5-dichlorosaligénol.

3-5-dibromosaligénol.

x-x-diiodosaligénol.

Dans la DEUXIÈME PARTIE, nous aborderons l'étude du pouvoir antimicrobien des dérivés ainsi préparés.

Cette deuxième partie comprend une introduction et trois chapitres.

Dans l'*introduction*, nous esquisserons rapidement les processus physico-chimiques régissant le mode d'action des désinfectants sur les microorganismes.

Dans le *premier chapitre*, nous passerons en revue les principaux travaux concernant le pouvoir désinfectant des corps phénoliques et de leurs dérivés halogénés.

Dans le *deuxième chapitre* nous rappellerons les principales méthodes préconisées pour l'essai des désinfectants, les critiques dont elles ont été l'objet et nous décrirons celles auxquelles nous nous sommes rallié.

Dans le *troisième chapitre*, nous relaterons nos résultats concernant les pouvoirs antimicrobiens des corps étudiés. Cette étude a été effectuée sur deux espèces : *Staphylococcus pyogenes aureus* et *Bacillus subtilis*, la première de résistance moyenne et qui est souvent choisie pour ce genre de recherches, la seconde qui comporte, à côté de formes végétatives, des formes sporulées.

La TROISIÈME PARTIE aura pour but d'élargir cette étude en cherchant plus particulièrement le pouvoir d'inhibition des dérivés salicyliques halogénés vis-à-vis des germes susceptibles de contaminer divers produits altérables.

Dans l'*introduction* de cette troisième partie, nous donnerons une analyse des travaux de Th. Sabalitschka, concernant la protection des produits périssables ou fermentescibles contre les altérations d'origine microbienne. Au cours des dernières années, cet auteur allemand a en effet préco-

nisé comme agents de conservation les esters de l'acide p-oxybenzoïque (acide isomère de l'acide salicylique). Nous nous sommes trouvé amené par là même à essayer parallèlement aux corps étudiés par nous, deux de ces esters, les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle.

Dans le *premier chapitre*, nous exposerons les résultats de nos essais de conservation, qui ont porté sur divers milieux naturels ou artificiels constituant par leur composition un milieu favorable au développement des microorganismes.

Nous terminerons enfin en indiquant dans le *deuxième chapitre*, les doses mortelles, pour le rat, des corps, qui ont manifesté le pouvoir de conservation le plus remarquable.

Nous remercions très vivement M. Radais, Doyen honoraire de la Faculté de Pharmacie de Paris, membre de l'Académie de Médecine, de la bienveillance qu'il nous a témoignée en nous acceptant dans son laboratoire.

Ce travail commencé au laboratoire de cryptogamie de la Faculté de Pharmacie a été poursuivi et terminé au laboratoire de la Pharmacie de l'hôpital Ambroise-Paré à Boulogne, sous la direction de M. J. Régnier, Professeur agrégé près la Faculté de Pharmacie de Paris, Pharmacien des Hôpitaux.

Que ce camarade d'études et d'internat, ami dévoué des bons et des mauvais jours, trouve ici l'expression de notre sincère et profond attachement.

Une partie des produits qui nous fut nécessaire au cours de ce travail, a été préparée au laboratoire de chimie minérale de la Faculté de Pharmacie, Professeur H. Gautier. La collection en a été complétée ensuite à la pharmacie du dispensaire, à laquelle nous étions affecté.

Quelques essais d'ordre physico-chimique ont été effectués au laboratoire de M. H. Hérissé, Professeur de chimie biologique à la Faculté de Pharmacie, Pharmacien des Hôpitaux, que nous sommes heureux de remercier ici de l'intérêt qu'il nous a toujours porté.

Nous exprimons à MM. les Professeurs de la Faculté des Sciences, MM. Portier, Javillier et Combes, nos respectueux remerciements pour le grand honneur qu'il nous ont fait en acceptant de faire partie du jury de cette thèse.

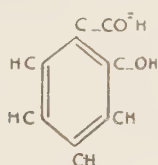
Nous sommes très reconnaissant à Mlle S. Lambin, Docteur ès Sciences, Assistante aux travaux pratiques de bactériologie de la Faculté de Pharmacie, qui a bien voulu nous faire profiter de son expérience et nous guider dans l'application des méthodes des désinfectants, dont elle terminait la mise au point, lorsque ces recherches ont été entreprises.

PREMIERE PARTIE

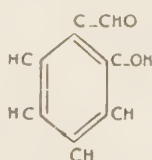
INTRODUCTION

Dans cette première partie, nous ferons l'exposé des procédés de préparation des dérivés salicyliques halogénés, dont nous nous sommes proposé, dans le présent travail, d'étudier les propriétés antimicrobiennes. Ces procédés relèvent de méthodes chimiques variées. Nous en ferons un rapide historique en les groupant autant que possible suivant leurs analogies. Nous indiquerons ensuite pour chaque cas particulier les méthodes de préparation que nous avons utilisées et rappellerons brièvement les principales propriétés des produits obtenus.

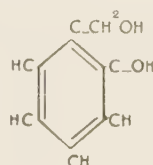
Au point de vue de leur constitution, les dérivés salicyliques, que nous avons examinés, peuvent être représentés par les formules suivantes ($X = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$) :



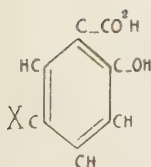
ACIDE
SALICYLIQUE



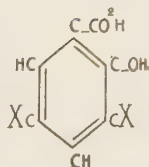
ALDÉHYDE
SALICYLIQUE



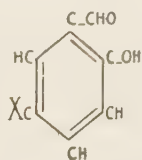
ALCOOL SALICYLIQUE
(SALIGÉNOL)



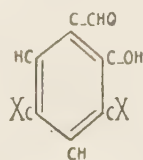
ACIDES
5-HALOGÉNOSALICYLIQUES



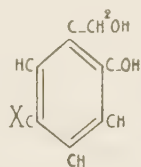
ACIDES
3,5-DIHALOGÉNOSALICYLIQUES



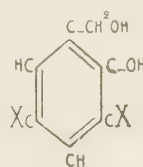
ALDÉHYDES
5-HALOGÉNOSALICYLIQUES



ALDÉHYDES
3,5-DIHALOGÉNOSALICYLIQUES



ALCOOLS
5-HALOGÉNOSALICYLIQUES
(5-HALOGÉNOSALIGÉNOLS)



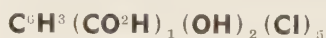
ALCOOLS
3,5-DIHALOGÉNOSALICYLIQUES
(3,5-DIHALOGÉNOSALIGÉNOLS)

Cette première partie est divisée en trois chapitres : le *premier chapitre* traite des acides salicyliques 5-mono et 3-5-dihalogénés ; le *deuxième chapitre* est consacré aux aldéhydes, et le *troisième chapitre* aux alcools halogénés correspondants.

CHAPITRE PREMIER

ACIDES SALICYLIQUES HALOGENES

I. — Acide 5-chlorosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — L'acide 5-chlorosalicylique peut se préparer :

1° *Par chloration directe de l'acide salicylique.* — Le premier, A. Cahours (26), en 1845, a signalé un acide chlorosalicylique provenant de l'action du chlore sur une solution aqueuse de salicylate monopotassique, poursuivie jusqu'à formation d'un précipité. Il saturait la liqueur à ce moment par addition d'un acide minéral.

H. Hübner et O. Brenken (65) faisaient agir un courant de chlore sec sur l'acide salicylique pulvérisé en suspension dans un grand volume de sulfure de carbone. Après distillation du sulfure de carbone, le résidu est repris par une grande quantité d'eau bouillante. L'acide 5-chlorosalicylique, moins soluble, cristallise le premier pendant le refroidissement. Ce procédé donne de mauvais rendements, une quantité importante de l'acide mis en œuvre échappant à l'action du chlore, tandis qu'il se forme par ailleurs un peu d'acide dichloré.

Ed. F. Schmith et G. K. Peirce (120) faisaient passer du chlore dans une solution d'acide salicylique dans l'alcool éthylique et recueillaient l'acide monochloré accompagné du dérivé dichloré.

La chloration directe de l'acide salicylique se fait beaucoup mieux en opérant dans le nitrobenzène (49). Dans ce

véhicule, le chlore se fixe exclusivement en position 5- et il suffit d'agiter le liquide avec une solution de soude diluée, que l'on neutralise ensuite par un acide minéral, pour obtenir l'acide chlorosalicylique avec un rendement presque quantitatif.

2° *Par chloration indirecte de l'acide salicylique.* — F. Beilstein (9) préparait l'acide 5-chlorosalicylique par l'action du pentachlorure d'antimoine sur l'acide salicylique à l'ébullition.

G. Mazzara (92) l'obtient en saponifiant au bain-marie le 5-chlorosalicylate d'éthyle par une solution d'hydrate de potassium à 40 p. 100. P. Brenans et Ch. Girod (19, 51) ont également utilisé ce procédé, qui sera décrit en détail plus loin.

Lassar-Cohn et Fr. Schutze (34), en faisant agir molécules égales de salicylate dipotassique et d'hypochlorite, recueillirent un mélange d'acide monochloré et d'acide dichloré.

A. Leulier et L. Pinet (89, 109) ont appliqué à l'acide salicylique la méthode d'halogénéation au moyen d'un mélange d'eau oxygénée et d'hydracides, précédemment étudiée par A. Leulier (81). En traitant l'acide salicylique par un mélange d'eau oxygénée et d'acide chlorhydrique, ces auteurs ont obtenu l'acide monochloré avec un rendement de 55 à 66 p. 100. (En suivant leurs indications, nous n'avons jamais pu arriver à des rendements aussi favorables).

3° *Au moyen des dérivés diazoïques.* — R. Schmitt (121) décomposait à $+200^{\circ}$ le sel double formé par combinaison du chlorure de platine avec le chlorhydrate de l'acide diazosalicylique. L'acide salicylique monochloré se sublime en aiguilles.

H. Hübner et G. Weiss (68) diazotaient l'acide m-chloro-o-aminobenzoïque en solution aqueuse à $+50^{\circ}$.

H. Weill, M. Traun et S. Marcel (149) ont appliqué la méthode de Sandmeyer : diazotation de l'acide amino-5-salicylique en présence d'acide chlorhydrique et de chlorure de cuivre.

4° *A partir du p-chlorophénol.* — L. Varnholt (143) com-

primait du gaz carbonique dans un autoclave contenant du p-chlorophénate de sodium sec, selon le procédé de Kolbe. Les rendements sont quantitatifs.

G. Hasse (58) traitait le p-chlorophénol par une solution alcoolique de potasse et du tétrachlorure de carbone pendant 5 à 6 heures, à une température de $+135-140^{\circ}$, en tubes scellés.

J. Zeltner et M. Landau (154) traitaient le p-chlorophénol par le tétrachlorure de carbone et un alcali, comme Hasse, mais en présence de poudre de cuivre, ce qui dispense de faire intervenir la pression.

5° *Par déméthylation de l'acide 5-chloro-2-méthoxybenzoïque.* — Peratoner et Condorelli (100) déméthylaient l'acide 5-chloro-2-méthoxybenzoïque au moyen de l'acide iodhydrique de densité 1,7 agissant pendant une heure au bain-marie.

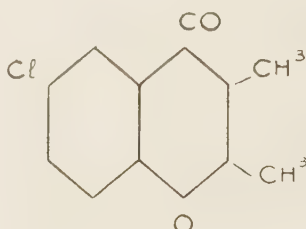
6° *Par hydrolyse du nitrile 5-chlorosalicylique.* — H. Biltz et K. Stepf (14), après avoir isomérisé l'oxime de l'aldéhyde 5-chlorosalicylique par l'anhydride acétique et saponifié par la soude l'acétate du nitrile obtenu, hydrolysaient ce nitrile $C^6H^3(CN)_1(OH)_2(Cl)_5$ par chauffage d'une demi-heure à $+200^{\circ}$ au bain d'huile avec de l'acide sulfurique étendu. Le rendement atteignait 90 p. 100 de la théorie.

7° *Par décomposition de dérivés organiques divers.* — H. L. Visser (144, 145), en oxydant le chlorosalicoside (chlorosalicine) (voir plus loin, p. 62), par le mélange sulfrochromique, obtint à la fois l'aldéhyde 5-chlorosalicylique, entraînable par la vapeur d'eau, et l'acide 5-chlorosalicylique.

Th. van Waveren (147), complétant les observations de Visser, oxydait le chlorosalicoside par une solution de permanganate de potassium à 1 p. 100 pendant deux heures à la température ordinaire. L'acide glucochlorosalicylique, ainsi formé, hydrolysé par ébullition avec de l'acide sulfurique étendu, se dédouble en glucose et acide chlorosalicylique.

H. Simonis et H. Schumann (128) dédoublaient par un alcali la diméthyl-2-3-chloro-6-phénopyrone, provenant de la

condensation du p-chlorophénol avec l'ester méthylique de l'acide acétyl-acétique.



G. Wittig (153) l'obtient parmi les produits de dégradation alcaline de la 2-3-diphényl-6-chlorochromone.

Procédés utilisés. — Parmi tous les procédés rappelés ci-dessus, deux nous ont paru plus spécialement intéressants pour la préparation de l'acide 5-chlorosalicylique au laboratoire. Ce sont la chloration directe de l'acide salicylique dans le nitrobenzène et, mieux encore, la saponification du chlorosalicylate d'éthyle ou de méthyle, selon Mazzara. Nous allons décrire cette dernière méthode.

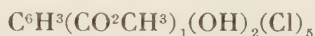
a) *Préparation des esters éthylique et méthylique de l'acide 5-chlorosalicylique.*— Mazzara préparait le salicylate d'éthyle:



en maintenant pendant quatre heures à l'ébullition, avec réfrigérant ascendant, une dissolution d'acide salicylique dans l'alcool absolu, additionnée d'acide sulfurique concentré. On distille ensuite l'alcool, on précipite par l'eau, on lave l'ester avec une solution de carbonate de sodium pour le débarrasser de l'acide salicylique n'ayant pas réagi. Le salicylate d'éthyle est alors soumis à la distillation fractionnée, après dessiccation. Il passe entre $+230$ et $+232^\circ$.

Sur le salicylate d'éthyle ainsi obtenu, Mazzara faisait agir le chlorure de sulfuryle. On ajoute peu à peu le chlorure de sulfuryle au moyen d'une ampoule à brome au salicylate d'éthyle contenu dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant. La réaction se fait avec un dégagement de chaleur appréciable. On laisse en repos douze heures et on maintient deux heures au bain-marie pour achever la réaction.

Pour éviter la préparation du salicylate d'éthyle, nous avons traité directement, selon le procédé de Mazzara, le salicylate de méthyle du commerce par le chlorure de sulfuryle et obtenu ainsi le 5-chlorosalicylate de méthyle :



qui cristallise facilement dans l'alcool (P. F. +48-50°).

Notons que cet ester avait été également obtenu antérieurement par L. Varnholt en faisant passer un courant d'acide chlorhydrique gazeux dans une solution d'acide 5-chlorosalicylique dans l'alcool méthylique, ainsi que par Lassar-Cohn et E. Fr. Schultze (34) en traitant le 5-chlorosalicylate d'argent par l'iodure de méthyle.

b) *Saponification des 5-chlorosalicylates de méthyle et d'éthyle.* — Que l'on utilise l'un ou l'autre de ces esters, il est facile de les saponifier en traitant leur solution dans l'alcool à 90° par la lessive de soude en quantité calculée, pendant une heure et demie au bain-marie bouillant. On distille ensuite l'alcool, on étend le résidu avec de l'eau et l'on acidule le liquide par un léger excès d'acide sulfurique dilué. L'acide chlorosalicylique précipité est purifié par cristallisation dans l'eau bouillante, puis dans l'alcool.

2. PROPRIÉTÉS, SELS, DÉRIVÉS. — L'acide 5-chlorosalicylique cristallise en aiguilles incolores, fusibles à +172°5. Il se dissout dans 1.175 parties d'eau à +15° et dans 80 p. à +100°. Il est facilement soluble dans l'alcool, l'éther, la ben-

zine, le chloroforme, l'acide acétique, très peu soluble dans la ligroïne. Il est soluble dans le tétrachlorure de carbone, moins toutefois que l'acide salicylique.

Sa solution aqueuse est fortement colorée en rouge violet par le perchlorure de fer.

J. Smith et J. Macchall (131) ont décrit les sels alcalins :

Lithium : $C^6H^3(Cl)_5(OH)_2(CO^2)_1Li + 2 OH^2$.

Potassium : $C^6H^3(Cl)_5(OH)_2(CO^2)_1K$.

Sodium : $C^6H^3(Cl)_5(OH)_2(CO^2)_1Na$.

Ils sont cristallisés. Le sel de sodium est soluble dans l'eau (15 p. 100 environ dans l'eau froide). Il est également soluble dans l'alcool.

H. Hübner et O. Brenken (165) ont préparé les sels de :

Baryum : $[C^6H^3(Cl)_5(OH)_2(CO^2)_1]^2Ba + 3 OH^2$; très soluble dans l'eau et l'alcool ;

Plomb : $[C^6H^3(Cl)_5(OH)_2(CO^2)_1]^2Pb$, poudre blanche, dense, d'aspect cristallin, presque insoluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau chaude ;

Cuivre : $[C^6H^3(Cl)_5(OH)_2(CO^2)_1]^2Cu$, poudre gris verdâtre, peu soluble dans l'eau ;

Argent : $C^6H^3(Cl)_5(OH)_2(CO^2)_1Ag$, précipité blanc, anhydre, noircissant à la lumière, insoluble dans l'eau froide, très peu soluble dans l'eau chaude.

F. Beilstein (9) a décrit le sel de calcium :



L. Varnholt (143) a également préparé les sels de sodium, de baryum et d'argent.

Oeschner de Coninck et Gérard (38-39) obtinrent le sel basique de baryum, $C^6H^3Cl \begin{matrix} \diagup CO^2 \\ O \end{matrix} Ba + OH^2$, en délayant le sel de baryum normal dans l'ammoniaque et en laissant en contact pendant deux à trois heures.

A. Cappadoro (28) a trouvé la constante de dissociation de l'acide 5-chlorosalicylique égale à 0,197, c'est-à-dire presque double de celle de l'acide salicylique ($K=0,102$).

R. Anschutz et A. Nefgen (3) ont préparé le dérivé acétylé en faisant bouillir l'acide 5-chlorosalicylique avec du

chlorure d'acétyle. Il fond à $+148^{\circ}$. L'action du pentachlorure de phosphore sur ce composé donne le chlorure d'acide correspondant : $C^6H^3(COCl)_1(OCOCH^3)_2(Cl)_5$. Ce dérivé a été également préparé par J. Smith et J. Macchall (131).

AMIDE 5-CHLOROSALICYLIQUE $C^6H^3(CONH^2)_1(OH)_2(Cl)_5$. — Nous avons été amené à préparer cet amide pour le réduire par l'amalgame de sodium en 5-chlorosaligénol, comme on le verra plus loin. On peut l'obtenir de différentes manières.

A. W. Titherley et E. C. Hughes (138) dissolvaient 50 g. d'amide salicylique dans 1.500 cm³ de chloroforme et faisaient passer un rapide courant de chlore dans la solution bouillante, maintenue à l'obscurité.

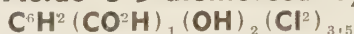
Le procédé d'obtention des amides par l'action de l'ammoniaque sur les esters a été utilisé par J. Smith et J. Macchall (131) d'une part et par G. Mazzara (92) d'autre part, les premiers s'adressant au 5-chlorosalicylate de méthyle, le second à l'ester éthylique et chauffant avec l'ammoniaque alcoolique sous pression.

H. Biltz et K. Stepf (14) maintenaient au bain d'huile à $+150^{\circ}$, pendant 5 minutes, 1 g., 5 de nitrile 5-chlorosalicylique avec 10 g. d'acide sulfurique concentré et 3 g. d'eau.

Nous avons obtenu cet amide, comme il sera dit plus loin pour l'amide salicylique, en laissant en contact pendant plusieurs jours le 5-chlorosalicylate de méthyle avec un excès de solution d'ammoniaque commerciale et en agitant fréquemment. L'ester se dissout peu à peu. Il suffit ensuite d'évaporer sous pression réduite et de purifier le résidu par cristallisation dans l'alcool.

Cet amide forme des paillettes blanches fusibles à $+22\frac{1}{2}$ – 226° . Il est soluble dans l'alcool, l'acide acétique, à peine soluble dans l'éther, le chloroforme, la ligroïne et l'eau.

II. — Acide 3-5-dichlorosalicylique :

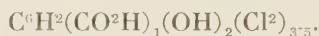


1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Comme le dérivé monochloré, l'acide 3-5-dichlorosalicylique peut se préparer :

1° *Par chloration directe de l'acide salicylique.*

A. Cahours (26), en 1845, signala un acide salicylique dichloré obtenu par l'action du chlore sur le salicylate de potassium.

Par action du chlore sur l'acide salicylique en solution dans l'acide acétique glacial (Rogers) (112), dans l'alcool éthylique (Smith) (130), dans le sulfure de carbone (W. Pauli) (97), furent obtenus des produits, dont la description comportait certaines divergences. C'est J. L. Hecht (60), qui montra que les différents produits obtenus par ces trois auteurs, ainsi que par Lössner (voir ci-dessous), étaient identiques et qu'il n'existe qu'un seul acide salicylique dichloré. En le distillant en présence d'oxyde de calcium et de sable, Hecht obtint le dichlorophénol $\text{C}^6\text{H}^2(\text{OH})_1(\text{Cl}^2)_{2,1}$, ce qui prouve que la constitution de l'acide répond à la formule :



Th. Zincke et H. Walbaum (156) introduisaient une quantité convenable de chlore dans une solution à 5 p. 100 d'acide salicylique dans l'acide acétique. L'acide dichloré se sépare en cristaux blancs. Un excès de chlore provoquerait la décomposition lente du produit formé.

R. Anschutze et H. Mehrling (2) ont suivi les indications de Zincke, en vue d'obtenir certains esters de cet acide.

N. Tarugi (135) faisait passer un courant de chlore dans une solution d'acide salicylique dans la potasse aqueuse à 15 p. 100 (à raison de trois molécules d'alcali pour une d'acide).

R. B. Earle et H. L. Jackson (44) ont appliqué la méthode de Tarugi et celle de Smith. Cette dernière leur a donné de meilleurs résultats.

2° *Par chloration de l'acide sulfosalicylique.*

R. L. Datta et H. K. Mitter (37), en faisant absorber du chlore à refus par une solution aqueuse d'acide sulfosalicylique, sont arrivés à remplacer le radical sulfonique par le chlore, le produit ultime de l'opération étant l'acide dichloré.

3° *Par chloration indirecte de l'acide salicylique.*

C. W. Lössner (86) fit agir le pentachlorure d'antimoine en excès sur l'acide salicylique, ce qui lui donna un mélange de dérivés mono- et dichlorés, qu'il sépara par l'eau bouillante, le second étant beaucoup moins soluble que le premier.

Leulier et Pinet (82) ont prescrit, pour l'obtention de l'acide dihalogéné de substituer le perhydrol à l'eau oxygénée 12 volumes dans leur mélange halogénant, de façon à provoquer une réaction plus énergique.

4° *Par déméthylation de l'acide dichlorométhoxysalicylique.*

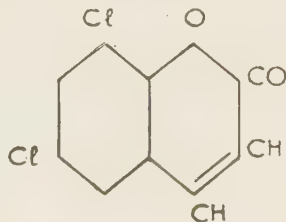
C. Martini (90) enlevait le groupe méthyle de l'acide dichlorométhoxysalicylique au moyen de l'acide iodhydrique.

5° *Par hydrolyse du nitrile dichlorosalicylique.*

H. Biltz et K. Stepf (14) hydrolysaient le nitrile dichlorosalicylique par l'acide sulfurique dilué. Rendement quantitatif.

8° *Par oxydation de la 6-8-dichlorocoumarine.*

B. Bihari Dey et K. Krishna Row (40) oxydaient par le permanganate de potassium la 6-8-dichlorocoumarine (facilement obtenue en appliquant à l'aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique le procédé de Perkin) et obtenaient, presque quantitativement, l'acide dichlorosalicylique.



Procédés utilisés. — Nous avons préparé cet acide par la méthode de Th. Zincke et H. Walbaum : chloration directe de l'acide salicylique dans l'acide acétique : 400 g. d'acide salicylique nous ont ainsi donné 500 g. de dérivé dichloré pur.

Nous avons également utilisé la méthode de Leulier et Pinet, que ces auteurs décrivent ainsi :

« 3 g., 50 d'acide salicylique sont mis en suspension dans 60 cm³ d'acide chlorhydrique pur à 43,43 ClH p. 100 cm³, on verse 12 cm³ de perhydrol par fractions de 1 cm³ de 5 en 5 minutes. L'introduction des 3 derniers cm³ détermine un violent dégagement de chlore. On verse alors 100 cm³ d'eau et on maintient le contact, avec agitation, pendant une heure ».

Nous avons obtenu de bons résultats en opérant sur des quantités vingt fois supérieures (soit 70 g. d'acide salicylique). Le produit obtenu contenait encore une certaine quantité de dérivé monochloré. Il en a été débarrassé par ébullition avec plusieurs litres d'eau et en le faisant ensuite cristalliser dans l'alcool. Rendement environ 50 p. 100 en produit pur.

2. PROPRIÉTÉS, SELS, DÉRIVÉS. — L'acide 3-5-dichlorosalicylique cristallise en petits prismes rhomboïdaux ou en fines aiguilles (de l'alcool dilué). Il fond à +219° avec décomposition partielle. Il est très peu soluble dans l'eau, 0 g., 40 par litre, facilement soluble dans l'alcool et l'éther, soluble aussi dans l'acide acétique. Il donne avec le perchlorure de fer une coloration violet foncé ; il en est de même de ses sels.

Les différents auteurs cités plus haut ont décrit les sels suivants :

Sodium, $C^6H^2(Cl^2)_{3-5}(OH)_2(CO^2)_1Na$ en fines aiguilles blanches agglomérées, très réfringentes (Smith), solubles dans l'eau à raison de 2 p. 100 à +18° (J. Thébault, 134) ;

Potassium, $C^6H^2(Cl^2)_{3-5}(OH)_2(CO^2)_1K$ (Smith) ;

Ammonium, $C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1NH^4$ (R. Anschutz et H. Mehring) ;

Argent, $C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1Ag$ (R. Anschutz et Mehring) ;

Magnésium, $[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1]^2Mg$ (Smith) ;

Baryum, $[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1]^2Ba + 4 OH^2$ (Hecht, E. J. Smith) ;

Plomb, $[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1]^2Pb$ (Smith), poudre insoluble.

Récemment, J. Thébault, élève de P. Brenans, (134) a encore préparé les 3-5-dichlorosalicylates suivants :

Mercure, $[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1]^2Hg$;

Bismuth, $[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1]^3Bi + 6 OH^2$;

Manganèse, $[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1]^2Mn + 2 OH^2$;

Lithium, $C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2)_1Li$;

ainsi que quelques sels organiques :

Antipyrine, $C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2H)_1, C^{11}H^{12}N^2O$;

Pyridine, $C^6H^2(CO^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2H)_1, C^5H^5N$;

Pipérazine, $2[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2H)_1], C^4H^{10}N^2$;

Quinine (neutre), $2[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2H)_1], C^{20}H^{24}N^2O^2$;

Strychnine, $2[C^6H^2(Cl^2)_{3.5}(OH)_2(CO^2H)_1], C^{21}H^{22}N^2O^2$.

Comme l'acide monochloré, l'acide dichlorosalicylique a été proposé comme moyen de protection contre les mites.

3-5-DICHLOROSALICYLATE DE MÉTHYLE. — A. Cahours (25) l'a le premier obtenu à l'état impur en traitant le salicylate de méthyle par le chlore.

Smith (130) en fit la synthèse en chauffant le dichlorosalicylate d'argent avec la quantité équivalente d'iodure de méthyle pendant deux heures en tubes scellés à $+135^\circ$.

C. Martini (90), pour identifier l'acide dichlorosalicylique, a préparé son ester méthylique par la méthode de Smith ; il a aussi effectué l'estérification de l'acide dichlorosalicylique par l'alcool méthylique en présence d'acide sulfurique fumant en chauffant le mélange à reflux au bain-marie.

L. Claisen (31) faisait passer dans une solution acétique de salicylate de méthyle (une partie de salicylate de méthyle

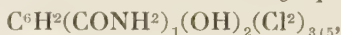
et trois parties et demie d'acide acétique) un courant de chlore à chaud jusqu'à saturation. L'ester cristallise par refroidissement. Rendement 80 p. 100 environ.

R. Anschutz et Mehring faisaient réagir l'alcool méthylique sur le chlorure de l'acide 3-5-dichlorosalicylique.

Procédé utilisé. — Nous avons obtenu le 3-5-dichlorosalicylate de méthyle par la méthode de Martini et par celle de Claisen ; mais nous l'avons principalement préparé en faisant passer un courant de chlore dans une solution de salicylate de méthyle dans le tétrachlorure de carbone en présence de quelques décigrammes d'iode comme catalyseur. L'opération se fait à chaud dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. Rendement 90 p. 100 environ. Le corps est purifié par cristallisations dans le tétrachlorure de carbone, puis dans l'alcool méthylique.

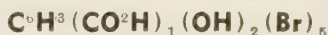
Propriétés. — Le 3-5-dichlorosalicylate de méthyle est un corps cristallisé fondant à $+150^{\circ}$, assez difficilement soluble à froid dans l'alcool, presque insoluble dans l'eau.

Maintenu en contact avec 8 à 10 fois son poids d'ammoniaque aqueuse et soumis à une agitation fréquente, il est transformé en *amide 3-5-dichlorosalicylique* :



déjà décrit par A. Cahours et par Smith. C'est un corps cristallisé en aiguilles blanches réunies en houppes, facilement solubles dans l'alcool, fondant à $+209^{\circ}$.

III. — Acide 5-bromosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Cet acide peut être obtenu :

1° *Par bromation directe de l'acide salicylique.*

Cahours (26), dans son Mémoire de 1845, relatait déjà ses

essais sur l'action du brome sur l'acide salicylique solide et l'obtention de dérivés bromés, dont la constitution ne fut pas complètement établie.

H. Hübner et C. Heinzerling (66) préparèrent l'acide « β -bromosalicylique » en introduisant l'acide salicylique finement pulvérisé dans un grand volume de sulfure de carbone tenant en dissolution un léger excès de brome. Le mélange était distillé après un contact de plusieurs heures. Le résidu était soumis à la cristallisation dans l'eau bouillante.

A. Hand (54) perfectionna ce procédé en faisant bouillir le résidu de la distillation du sulfure de carbone avec de l'eau, ce qui entraînait la presque totalité de l'acide salicylique non attaqué. R. Dierbach (41), d'une part, H. Weil, M. Traun et S. Marcel, d'autre part, l'obtinrent aussi par cette méthode.

Th. Hewitt, J. Kenner et H. Silk (64) ont opéré la bromation de l'acide salicylique dans un mélange d'acide acétique et d'acide sulfurique. D'après ces auteurs, la présence d'acide sulfurique empêche le brome de se fixer en position 3 et l'on obtient un acide salicylique substitué en 5.

P. Brenans et Ch. Girod (18-51) ont perfectionné ce procédé et précisé ainsi les conditions de l'opération :

« On dissout dans un ballon de Berthelot 13 g., 8 d'acide salicylique dans 100 cm³ d'acide acétique cristallisable ; on introduit dans la solution, peu à peu et en agitant, 20 g. d'acide sulfurique concentré. On ajoute au mélange maintenu vers +30-40° une solution de 16 g. de brome dans 50 cm³ d'acide acétique. On adapte au col du ballon un bouchon muni d'un tube étiré à son extrémité inférieure et on réunit le tube latéral à un réfrigérant ascendant. On maintient au bain-marie pendant 30 minutes la liqueur rougeâtre, qui devient rapidement jaune pâle ».

« La réaction terminée, on distille la liqueur sous pression réduite avec rentrée d'air. Si on dispose le ballon à 1 cm. environ de la toile métallique, on évite les soubresauts, qui se produiraient, sans cette précaution, dans la liqueur se remplissant de cristaux vers la fin de l'opération ».

« Après refroidissement, on essore le produit ». Le rendement est ainsi de 80 p. 100.

Ch. Girod recommande de ne pas pousser trop loin la distillation de l'acide acétique sous peine de diminuer le rendement. Le produit brut est purifié par cristallisation soit dans l'eau, soit dans l'alcool, puis enfin dans le benzène. Cette purification a pour inconvénient d'abaisser le rendement à environ 50 p. 100.

D. Tischtschenko (139) opérait la bromation en milieu aqueux en ajoutant une suspension d'acide salicylique dans l'eau à une solution aqueuse contenant du carbonate de sodium et du brome.

2° *Par bromation indirecte de l'acide salicylique.*

L. Henry (62) traitait à une douce chaleur un mélange d'une molécule d'acide salicylique et de deux molécules de pentabromure de phosphore. Il obtenait ainsi un mélange d'acide bromosalicylique et de son anhydride. Ce dernier d'ailleurs se transformait en acide par ébullition prolongée avec du carbonate de sodium et addition d'acide chlorhydrique. H. Hubner, J. Ohly et O. Philipp (67), employant les mêmes réactifs, n'avaient pas obtenu d'acide bromosalicylique.

Lassar-Cohn et Schutz (34) par l'action de molécules égales d'hypobromite de sodium sur le salicylate disodique obtinrent un mélange d'acide mono- et d'acide dibromé. Par contre, Ullmann et Kopetschini (142) en insistant sur l'action de l'hypobromite décomposèrent le produit en 2-4-6-tribromophénol et montrèrent que le brome dans les acides bromosalicyliques est substitué en 5 et en 3-5.

Oeschner de Coninck et Gérard (38-39) ont constaté que le salicylate basique de cuivre traité par un mélange de trois parties d'acide bromhydrique et d'une partie d'acide azotique est transformé en bromure de cuivre et acide 5-bromosalicylique.

A. Leulier et L. Pinet (82) ont proposé de traiter l'acide salicylique par le mélange : acide bromhydrique et eau oxygénée. L'acide 5-bromosalicylique, qu'ils ont ainsi obtenu,

avait pour point de fusion $+155^{\circ}$ (?). En cherchant à appliquer ce procédé, P. Brenans et Ch. Girod (18) ne sont parvenus qu'à des rendements médiocres.

3° *Par les dérivés diazoïques.*

H. Hübner et C. Heinzerling (66) diazotaient l'acide β -bromoaminobenzoïque par le nitrite de potassium et obtenaient un acide β -bromooxybenzoïque, P. F. $+164-165^{\circ}$, identique à celui obtenu par bromation directe dans le sulfure de carbone.

Tummeley Ed. (141) a obtenu le même acide en décomposant la combinaison diazoïque de l'acide aminosalicylique en présence d'acide bromhydrique sous pression réduite.

R. Dierbach (41) traitait l'acide diazosalicylique en suspension dans l'alcool méthylique par l'acide bromhydrique et la poudre de cuivre.

P. Brenans et Ch. Girod (18) ont également décomposé par l'acide bromhydrique en présence de poudre de cuivre le sulfate du diazoïque de l'acide amino-5-salicylique :



pour caractériser le produit que leur donnait le procédé de Th. Hewitt, J. Kenner et H. Silk, modifié par eux. Ils ont en outre préparé l'ester acétique et l'ester méthylique de l'acide 5-bromosalicylique.

4° *Au moyen du bromosalol.*

P. Kautschke (71), A. Purgotti et N. Monti (108) saponifiaient le bromosalol, déjà obtenu par R. Dierbach en traitant le salol par le brome en solution sulfocarbonique ou bien en faisant agir le trichlorure de phosphore sur un mélange de phénol et d'acide bromosalicylique.

5° *Au moyen de composés organiques divers.*

Visser (144-145) oxydait par le mélange sulfochromique le 5-bromosalicoside, comme il a été dit pour le dérivé chloré. Il se formait en même temps du 5-bromosalicylaldéhyde.

Th. van Waveren (147) dédoublait par l'acide sulfurique étendu l'acide glucobromosalicylique provenant de l'oxydation du bromosalicoside.

J. Leskiewicz et L. Marchlewski (80) indiquèrent que l'acide bromosalicylique figure au nombre des produits de décomposition par le brome de la datiscéine ou trihydroxy-1-3-1'-flavonol.

H. Simonis et H. Schumann (128) dédoublent la diméthyl-2-3-bromo-6-phénopyrone par un alcali.

Procédés utilisés. — Nous avons obtenu l'acide 5-bromosalicylique par bromation directe de l'acide salicylique dans le sulfure de carbone selon le procédé de H. Hübner et C. Heinzerling, perfectionné par A. Hand. Nous avons également essayé la bromation dans le tétrachlorure de carbone et dans le nitrobenzène, mais nous n'avons pas trouvé à ces véhicules une supériorité notable sur le sulfure de carbone.

2. PROPRIÉTÉS, SELS, DÉRIVÉS. — L'acide 5-bromosalicylique se présente en aiguilles incolores, aplaties, réfringentes, assez facilement solubles dans l'eau bouillante, peu solubles dans l'eau froide (0 g., 730 par litre), facilement solubles dans l'alcool, l'éther, l'acide acétique, l'ester acétique, moins solubles dans le chloroforme, le benzène, insolubles dans l'éther de pétrole.

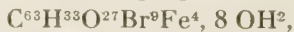
P. Brenans et Ch. Girod ont donné comme point de fusion +167-168°, alors que les différents auteurs indiquaient +164-165°. Nous avons aussi obtenu ce point de fusion de +167-168° avec des produits purifiés par plusieurs cristallisations dans l'eau bouillante.

La solution aqueuse de l'acide bromosalicylique se colore en bleu par le perchlorure de fer.

Le sel de sodium est soluble dans douze parties d'eau froide.

On connaît les sels de baryum à 3 OH², d'argent, de plomb, de cuivre.

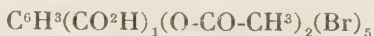
M. Claasz (30), en traitant le bromosalicylate de sodium par le perchlorure de fer, a préparé le sel de fer :



dont F. Weinland et K. Zimmermann (150) étudièrent la constitution.

Oeschner de Coninck et Gérard (38-39) obtinrent le sel basique de plomb $C^6H^3Br \left\langle \begin{smallmatrix} CO^2 \\ O \end{smallmatrix} \right\rangle Pb, OH^2$, en précipitant une solution étendue du sel de baryum par l'acétate de plomb. En portant au rouge avec précaution le bromosalicylate basique de plomb, on obtient du bromophénol et du carbonate de plomb.

W. Robertson (112) a préparé l'ester acétique :



et indiqué comme point de fusion du produit cristallisé dans l'alcool : $+168^\circ$. Par contre, P. Brenans et Ch. Girod, qui ont eu également l'occasion de préparer cet ester, ont donné comme point de fusion du produit cristallisé dans l'alcool à 60° , puis dans le benzène : $+148^\circ$.

L'amide 5-bromosalicylique $C^6H^3(CONH^2)_1(OH)_2(Br)_5$ a été obtenu par Kautschke (71), en faisant bouillir le 5-bromosalicylate de phényle avec l'ammoniaque alcoolique.

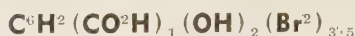
Cet amide cristallise en lamelles fondant à $+232^\circ$.

ESTERS MÉTHYLIQUE ET ÉTHYLIQUE DE L'ACIDE 5-BROMOSALICYLIQUE. — Le bromosalicylate de méthyle, obtenu par A. Cahours (25) dans l'action du brome sur l'essence de Gaulthérie, puis par L. Henry en faisant agir sur le salicylate de méthyle le pentabromure de phosphore, s'obtient facilement d'après A. Peratoner (99) en faisant agir le brome sur le salicylate de méthyle en solution dans le sulfure de carbone et en refroidissant avec de la glace. Nous l'avons également préparé en opérant dans le tétrachlorure de carbone.

Il forme des tables prismatiques, fusibles à $+61^\circ$. Il est presque insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool méthylique froid, plus soluble à chaud.

P. Brenans et Ch. Girod ont préparé le 5-bromosalicylate d'éthyle $C^6H^3(CO^2C^2H^5)_1(OH)_2(Br)_5$ en maintenant douze heures à l'ébullition à reflux une dissolution d'acide 5-bromosalicylique dans l'alcool absolu, additionnée d'acide sulfurique concentré.

IV. — Acide 3-5-dibromosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — L'acide 3-5-dibromosalicylique peut s'obtenir :

1° *Par bromation directe de l'acide salicylique.*

A. Cahours (26) l'avait déjà mentionné comme résultant de l'action d'un excès de brome sur l'acide salicylique ou sur une solution aqueuse de salicylate de potassium.

Ebelmen (43) traitait aussi l'acide salicylique par un excès de brome. Le produit de la réaction, pulvérisé, était purifié en le transformant en sel d'ammonium.

R. Rollwage (115) l'obtint aussi par action du brome sur l'acide salicylique et lui assigna un point de fusion de $+219^\circ$.

Eug. Lellmann et R. Grothmann (79) effectuaient la bromation de l'acide salicylique dans l'acide acétique. P. Brenans et Ch. Girod ont utilisé le procédé de ces auteurs au cours de leurs recherches. J. Thébault (137) recommande d'éviter l'action de la chaleur, qui risque de transformer l'acide dibromé en tribromo-2-4-6-phénol.

W. Robertson (112) ajoutait de l'iode à la solution de l'acide salicylique dans l'acide acétique pour faciliter la réaction.

A. Robitsek et R. Anschutz (113) opéraient également dans l'acide acétique en refroidissant par l'eau glacée. Toutefois, il se formait comme produit accessoire des quantités notables de tribromophénol, qu'ils séparaient de l'acide dibromosalicylique en diluant le liquide de la réaction avec la moitié de son volume d'eau. L'acide dibromosalicylique, difficilement soluble dans l'acide acétique dilué, précipitait. On le purifiait par lavages à l'eau et cristallisation dans l'alcool.

R. B. Earle et H. L. Jackson (44) au contraire opéraient

à chaud et portaient finalement la liqueur acétique à l'ébullition.

A. Seidell (122), dans son procédé de dosage des salicylates, faisait agir le brome en solution chlorhydrique. Il y a formation d'acide dibromosalicylique avec utilisation de quatre atomes de brome par molécule de salicylate.

2° *Par bromation indirecte de l'acide salicylique.*

E. Bullmann et E. Rimbert (24) ont préparé cet acide dibromé par l'action de l'acide hypobromeux sur l'acide salicylique.

Leulier et Pinet (82) ont prétendu l'obtenir avec un rendement quantitatif au moyen du mélange : acide bromhydrique + eau oxygénée. P. Brenans et Ch. Girod (18) affirment par contre que ce procédé leur a donné uniquement du tribromophénol 2-4-6.

3° *Par les dérivés diazoïques.*

Eug. Lellmann et R. Grothmann (79) décomposaient par l'acide bromhydrique le diazoïque de l'acide 3-bromo-5-aminosalicylique. La purification étant pénible, ils ont trouvé eux aussi préférable d'opérer la bromation dans l'acide acétique.

4° *Par saponification du dibromosalol.*

P. Kautschke (71) saponifiait le dibromosalicylate de phényle ; toutefois son produit fondait à +120-121°.

5° *Au moyen de composés organiques divers.*

F. Ullmann et Ed. Kopetschni (142) chauffaient une solution de 1 g., 5 d'acide tribromobenzoïque dans 25 cm³ d'eau, additionnée de 1 g. de carbonate de potassium et d'un peu de cuivre en poudre. Par refroidissement, ils obtenaient 0 g., 95 de dibromosalicylate de potassium. En même temps, ils ont établi que Lassar-Cohn et Schutze obtenaient par l'hypobromite le dérivé 3-5 et non le dérivé 5-6.

F. Peters et H. Simonis (101) oxydaient par le permanganate de potassium la 1-3-5-tribromo-méthyl-coumarine en solution alcaline et ont prouvé ainsi la constitution de celle-ci.

H. Simonis et H. Schumann (128) hydrolysaient la 2-3-diméthyl-6-8-dibromophénopyrone.

Procédé utilisé. — Nous avons opéré selon la méthode de W. Robertson :

« 10 g. d'acide salicylique sont dissous dans de l'acide acétique cristallisable. A la solution chaude on ajoute 9 cm³, 7 de brome (2 mol., 5) et un gramme d'iode. On laisse en contact une heure. On chauffe ensuite quelques instants. On distille une partie de l'acide acétique sans pousser trop loin la concentration et l'on verse le résidu dans une solution concentrée de bisulfite de sodium. L'acide se sépare sous forme d'un précipité blanc cristallin. On lui fait subir une nouvelle cristallisation dans l'acide acétique ». Rendement 75 p. 100.

2. PROPRIÉTÉS, SELS, DÉRIVÉS. — L'acide 3-5-dibromosalicylique cristallise de l'alcool à 60° en aiguilles légèrement jaunes, peu solubles dans l'eau froide (0 g., 390 par litre), très solubles dans l'alcool fort et dans l'ester acétique, moins solubles dans l'acide acétique, la benzine et le chloroforme.

Il se dissout à douce chaleur dans l'acide sulfurique ; l'eau le précipite de cette solution (Ebelmen).

Il fond à +223°5.

Comme pour les autres acides salicyliques halogénés, sa solution aqueuse se colore en bleu par le perchlorure de fer.

Il décompose difficilement les carbonates.

Par distillation de l'acide dibromosalicylique, A. Peratoner (99) obtint le 2-4-dibromophénol, ce qui établit sa constitution.

Les sels de sodium, de potassium, d'ammonium sont encore moins solubles que ceux de l'acide monobromé. Le sel de sodium constitue de petites lamelles, agglomérées, jaunes, soyeuses ou de fines aiguilles longues jaune pâle. Sa solubilité dans l'eau à +18° est d'environ 3 p. 100. Il est soluble dans l'alcool à 90°.

Le sel basique de plomb $C^6H^2Br^2\left\langle\begin{smallmatrix} CO^2 \\ O \end{smallmatrix}\right\rangle Pb$ est obtenu par double décomposition entre le sel de baryum normal et l'acétate de plomb (E. Lellmann et R. Grothmann, Oeschner de Coninck et Gérard).

J. Thébault a préparé récemment les 3-5-dibromosalicylates de mercure, manganèse, lithium et, dans la série organique, ceux d'antipyrine, de pyridine, de pipérazine, de quinine (neutre), de strychnine.

Le dérivé acétylé $C^6H^2(CO^2H)_1(O-CO-CH^3)_2(Br^2)_{3.5}$ décrit par W. Robertson fond à $+156^\circ$.

L'éther oxyde méthylique $C^6H^2(CO^2H)_1(OCH^3)_2(Br^2)_{3.5}$ fond à $+194^\circ$ (Robertson).

ESTERS MÉTHYLIQUE ET ÉTHYLIQUE DE L'ACIDE 3-5-DIBROMOSALICYLIQUE. — En bromant l'essence de Gaulthérie, Cahours obtint, à côté d'une petite quantité d'ester monobromé, un ester dibromé, fondant vers $+145^\circ$.

Selon A. Peratoner (99), le dibromosalicylate de méthyle se prépare facilement soit en saturant une solution d'acide dibromosalicylique dans l'alcool méthylique par le gaz chlorhydrique, soit en faisant agir le brome sur l'ester monobromé refroidi par de la glace.

Lassar-Cohn et Schultze (34) en ont fait la synthèse en traitant le 3-5-dibromosalicylate d'argent par l'iodure de méthyle.

R. Anschutz et Robitsek (113) utilisent la réaction de l'alcool méthylique sur le chlorure de l'acide 3-5-dibromosalicylique.

Hugo Kauffmann et Max Egner (70) opèrent la bromation du salicylate de méthyle en solution sulfocarbonique en présence d'un peu de fer, qui améliore le rendement. En l'absence de fer, les rendements seraient moins bons et il se formerait surtout l'ester monohalogéné.

Procédé utilisé. — Nous avons préparé le dibromosalicylate de méthyle en mélangeant à froid une solution de sali-

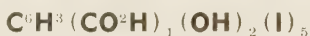
cylate de méthyle dans le tétrachlorure de carbone contenant une petite quantité d'aluminium porphyrisé et une solution de brome dans le même liquide dans la proportion de deux molécules de brome pour une de salicylate de méthyle. Après un contact de 24 heures le mélange était concentré par distillation et l'ester déposé pendant le refroidissement était purifié par dissolution dans le chloroforme, précipitation par la ligroïne et enfin cristallisation dans l'alcool méthylique.

Propriétés. — Le 3-5-dibromosalicylate de méthyle cristallise en aiguilles fusibles à $+156^{\circ}$. Il est insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool froid.

Sous le nom de « Salibromine », le 3-5-dibromosalicylate de méthyle a été proposé comme antinévralgique.

P. C. Freer (47) obtint le 3-5-dibromosalicylate d'éthyle par action du brome sur le dérivé sodé de l'ester éthylsalicylique en solution dans le chloroforme.

V. — Acide 5-iodosalicylique :



1. HISTORIQUE. — La constitution des acides salicyliques monoiodés a été établie de façon certaine, en 1923, par P. Brenans et C. Prost (21, 107).

Ces auteurs ont montré que, de tous les chimistes qui ont étudié les acides salicyliques monoiodés, seul A. Goldberg (52) a isolé de façon certaine l'isomère 1-2-5, en diazotant l'acide amino-5-salicylique en présence d'acide iodhydrique. A. Goldberg n'a toutefois donné que des renseignements insuffisants sur le produit qu'il avait obtenu et n'en a décrit aucun dérivé.

P. Brenans et C. Prost ont repris la question et ont préparé les trois acides salicyliques monoiodés isomères : 1-2-3, 1-2-4 (22), 1-2-5, en diazotant le sulfate de l'acide aminosalicylique correspondant (ou de l'ester éthylique de cet

acide dans le cas du dérivé 1-2-4) et en décomposant le diazoïque formé par l'acide iodhydrique. La constitution de ces acides était ainsi établie de façon sûre et les auteurs ont pu décrire leurs propriétés et préparer quelques dérivés.

En 1928, P. Brenans et Ch. Girod (20) ont étudié à nouveau la préparation de l'acide 5-iodosalicylique en utilisant cette fois la méthode de P. Weselsky (152) : action à froid sur l'acide salicylique, en solution dans l'alcool, de l'iode en présence d'oxyde jaune de mercure. Ce procédé donne un mélange des isomères 1-2-5 et 1-2-3, que P. Brenans et Ch. Girod ont séparés en les transformant en esters acétiques.

En 1931, P. Brenans et B. Rapilly (23) ont montré que l'action du mélange iodo-ioduré sur le salicylate de mercure fournit l'acide 5-iodosalicylique avec un peu d'acide diiodé.

2. PRÉPARATION DE L'ACIDE 5-IODOSALICYLIQUE. — C'est par la méthode de P. Brenans et Ch. Girod que nous avons préparé l'acide 5-iodosalicylique, dont nous nous sommes servi. Voici le mode opératoire, tel qu'il a été décrit par Ch. Girod (51) :

a) *Iodation de l'acide salicylique.* — « On ajoute alternativement et peu à peu, en agitant, 25 g., 40 d'iode et 10 g., 80 d'oxyde de mercure à une solution de 13 g., 80 d'acide salicylique dans 100 cm³ d'alcool à 90°. Il est bon de pulvériser au préalable très finement l'iode et l'oxyde jaune de mercure. La réaction se fait avec dégagement de chaleur. On sépare le biiodure de mercure formé de la solution alcoolique qu'on distille en grande partie et l'on additionne d'eau le résidu. On traite le produit obtenu par un litre d'une dissolution chaude renfermant 6 g. de carbonate de soude, dans laquelle le produit de la réaction entre en solution. La liqueur, en refroidissant, dépose un peu de biiodure qu'on sépare. On acidule la solution alcaline par l'acide chlorhydrique ; on introduit le précipité qui s'est ainsi formé dans un litre et demi d'eau chaude, qu'on additionne peu à peu, vers l'ébul-

lition, de 10 g. de carbonate de baryte pulvérisé. On filtre la solution chaude des sels de baryum et on l'abandonne au refroidissement. »

Il se produit une première cristallisation, surtout constituée par du diiodosalicylate de baryum, d'où l'on peut extraire l'acide diiodé (environ 4 g., 50, d'après les auteurs).

« Les eaux mères, renfermant les sels de baryum, fournissent par évaporation une seconde, puis une troisième cristallisation de sels de baryum qui, décomposés séparément en milieu aqueux par l'acide chlorhydrique, donnent un produit iodé (12 g., 35) d'un point de fusion variant de $+178^{\circ}$ à $+183^{\circ}$, constitué surtout par de l'acide iodo-5-salicylique, mélangé à un peu de l'isomère 1-2-3 ».

b) *Préparation des esters acétiques.* — « On maintient à l'ébullition pendant une heure le composé (12 g., 35) additionné de 35 g. d'anhydride acétique. On verse la solution refroidie dans beaucoup d'eau ; le précipité, d'abord huileux, se prend, après un certain temps et par agitation, en une masse blanche pulvérulente. On essore le précipité, on le lave, on le sèche ; il pèse 13 g. ».

Par cristallisation fractionnée dans un mélange à volumes égaux de chloroforme et d'ester acétique, on obtient l'acide acétyliodosalicylique $C^6H^3(CO^2H)_1(O-CO-CH^3)_2(I)_5$ à l'état pur (7 à 8 g., d'après Ch. Girod).

c) *Saponification de l'ester acétique.* — « On maintient à l'ébullition pendant deux heures une dissolution de 15 g., 30 de l'ester acétique fusible à $+166^{\circ}$ dans 125 cm³ d'alcool absolu, additionné de 60 cm³ de soude étendue renfermant 4 g. d'alcali. On distille l'alcool, on dilue la liqueur résiduelle avec de l'eau et on acidule la solution obtenue par 50 cm³ d'acide sulfurique 2 N. Le produit ainsi formé est recueilli, lavé, séché ; il fond à $+198^{\circ}$ et constitue l'acide 5-iodosalicylique à l'état pur ».

Autre méthode de séparation des acides iodosalicyliques.
— Récemment, P. Hébert (57), élève de P. Brenans, a indi-

qué une méthode de séparation des acides salicyliques iodés plus parfaite et moins longue.

Le 3-5-diiodosalicylate manganèux étant insoluble dans l'eau, tandis que le 5-iodosalicylate de manganèse est au contraire très soluble, la méthode de P. Hébert consiste à introduire dans de l'eau chaude le mélange des acides salicyliques iodés, que l'on transforme d'abord en sels de sodium au moyen du carbonate de sodium. Par addition de la quantité calculée de sulfate de manganèse, le diiodosalicylate de manganèse précipite presque totalement. L'acide 5-iodosalicylique est isolé en acidifiant la solution par l'acide chlorhydrique. On le purifie à l'état d'ester acétique, comme ci-dessus.

3. PROPRIÉTÉS. — Voici les principales propriétés publiées par P. Brenans et C. Prost dans leur travail :

Acide 1-2-3 : P. F. +199°. Ester acétique : P. F. +135°. Ester éthylique : huile incolore.

Acide 1-2-4 : P. F. +227-228°. Ester acétique : P. F. +156°. Ester éthylique : P. F. +21°.

Acide 1-2-5 : aiguilles fines, blanches, fusibles à +198°. Ester acétique : P. F. +166°. Ester éthylique : P. F. +70-71°.

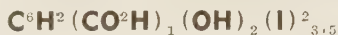
L'acide 5-iodosalicylique est très peu soluble dans l'eau froide (0 g., 58 par litre à +15°). Son sel de sodium est soluble dans l'eau à raison de 5 p. 100 environ. P. Hébert a préparé les sels de manganèse, soluble dans 50 parties d'eau à +19°, de magnésium peu soluble dans l'eau, de mercure, insoluble dans l'eau, — puis les 5-iodosalicylates d'antipyrine, de quinine (neutre) et de strychnine.

5-IODOSALICYLATE DE MÉTHYLE. — Nous avons préparé le 5-iodosalicylate de méthyle en estérifiant l'acide 5-iodosalicylique par l'alcool méthylique en présence d'acide sulfurique. On maintient à l'ébullition pendant deux jours un mélange contenant 10 g. d'acide 5-iodosalicylique et 20 g. d'acide sulfurique dans 125 cm³ d'alcool méthylique anhydre. On distille ensuite l'alcool et on précipite le résidu par l'eau. Le précipité, additionné de 10 g. de carbonate de baryum,

pour éliminer l'acide sulfurique ainsi que l'acide 5-iodosalicylique qui n'a pas réagi, est délayé dans l'eau chaude. On reprend le dépôt par l'alcool méthylique et l'on fait cristalliser l'ester ainsi obtenu.

Cet ester constitue des aiguilles insolubles dans l'eau, peu solubles dans l'alcool, fondant à $+76^{\circ}5$.

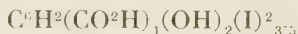
VI. — Acide 3-5-diiodosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Ed. Lauteman (77) et P. Liechti (83) avaient préparé des acides diiodés, mais de point de fusion différent. P. Weselsky, avec sa méthode d'iодation par l'iode et l'oxyde de mercure, obtint un acide diiodé semblable à celui d'Ed. Lautemann.

Plus récemment, V. Cofmann (33) se servit du chlorure d'iode, qu'il faisait agir sur l'acide salicylique en solution acétique. Il pensait que cette réaction ne pouvait donner naissance qu'à de l'acide salicylique diiodé.

P. Brenans et C. Prost (21) ont montré que dans l'action d'une molécule de chlorure d'iode sur une molécule d'acide salicylique, il se fait à la fois de l'acide monoiodé et de l'acide diiodé. Le premier, d'ailleurs prédominant, a été caractérisé comme étant l'isomère 1-2-5, au moyen de son ester acétique. Si l'on fait agir deux molécules de chlorure d'iode sur une molécule d'acide salicylique, on obtient principalement de l'acide diiodé. Cet acide est l'isomère :



et P. Brenans et C. Prost l'ont obtenu indifféremment en traitant les acides monoiodés 1-2-3 ou 1-2-5 par l'iode en présence de l'oxyde jaune de mercure, en milieu alcoolique.

Procédé utilisé. — Nous avons préparé l'acide 3-5-diiodé par la méthode de V. Cofmann, rapportée par C. Prost (107).

« On verse une solution de 18 g. (2 mol.) de chlorure

d'iode⁽¹⁾ dans 25 cm³ d'acide acétique, dans une solution de 7 g. d'acide salicylique dans 25 cm³ d'acide acétique cristallisable. On étend la liqueur avec de l'eau et l'on entraîne par la vapeur d'eau l'iode qui n'a pas réagi. Après refroidissement du mélange, on sépare un produit caséeux blanc ; on le lave et on le sèche ».

Il est purifié par cristallisation dans l'alcool à 60°.

2. PROPRIÉTÉS. — C'est un corps cristallisé en aiguilles dures, fusibles à +226-228°.

Son ester acétique fond à +153°.

D'après V. Cofmann, l'acide diiodé est soluble à raison de 1 partie dans 1.000 p. d'eau à +10° et dans 5.200 p. à +25°.

Le sel de sodium se dissout dans 50 parties d'eau froide environ.

P. Hébert a étudié les diiodosalicylates de lithium, mercure, bismuth, aluminium, zinc, manganèse ainsi que ceux d'antipyrine, de quinine (neutre) et de strychnine.

3-5-DIIODOSALICYLATE DE MÉTHYLE. — Cet ester a été obtenu par A. Gallinek et E. Courant (48) par quatre procédés différents : 1° en traitant le salicylate de méthyle par une solution d'iode dans l'iodure de potassium en présence d'alcali ; 2° au moyen d'une solution alcoolique d'iode en présence d'oxyde de mercure ; 3° en chauffant le 3-5-diiodosalicylate de potassium avec l'iodure de méthyle en solution dans l'alcool méthylique en tube scellé à +100° ; 4° au moyen du chlorure de l'acide diiodosalicylique et de l'alcool méthylique. R. Anschutz, A. Robitsek et Fr. Schmitz (4) l'ont également obtenu par ce dernier procédé.

Nous avons préparé le 3-5-diiodosalicylate de méthyle en effectuant l'iodation directe du salicylate de méthyle en présence d'oxyde jaune de mercure et en milieu alcoolique. Rendement 45 p. 100 environ.

(1) Le chlorure d'iode, utilisé pour la préparation de l'acide diiodosalicylique s'obtient facilement en faisant passer un courant de chlore sec sur de l'iode, suivant la technique précisée par P. Brenans (17). On distille en recueillant ce qui passe de +100 à +105°.

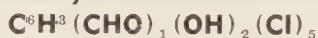
Le 3-5-diiodosalicylate de méthyle cristallise en aiguilles, fondant à $+110^{\circ}$, très peu solubles dans l'eau, difficilement dans l'alcool froid et dans l'éther, très solubles dans l'alcool bouillant.

Sous le nom de « Sanoforme », il a été proposé comme antiseptique pour remplacer l'iodoforme.

CHAPITRE II

ALDEHYDES SALICYLIQUES HALOGENES

I. — Aldéhyde 5-chlorosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — L'aldéhyde 5-chlorosalicylique peut être obtenu :

1° *Par chloration directe de l'aldéhyde salicylique.*

R. Piria (103) fut le premier à le préparer de cette façon. Il faisait passer le chlore sec sur l'aldéhyde salicylique. Il y a échauffement notable et, par refroidissement, le produit se prend en masse cristalline. Le travail de Piria est également rapporté par Loewig (87).

H. Biltz et K. Stepf (14) ont employé la méthode de Piria. Ils maintiennent toutefois au bain-marie la fiole contenant l'aldéhyde salicylique, dans lequel barbote un courant rapide de chlore sec. Grâce à cette précaution, on évite facilement l'obstruction du tube adducteur par cristallisation du produit chloré.

P. Rivals (111) l'obtint également de la même manière.

W. P. Bradley et F. B. Dains (16) opèrent cette chloration sur une solution de l'aldéhyde dans l'acide acétique glacial.

2° *Par chloration indirecte de l'aldéhyde salicylique.*

A. Peratoner et G. B. Condorelli (100) avaient recours à l'action du chlorure de sulfuryle. Il suffit de laisser tomber lentement le chlorure de sulfuryle dans l'aldéhyde salicylique et de terminer l'action au bain-marie. Le dérivé halogéné

cristallise par refroidissement. On l'essore et on lui fait subir une ou deux cristallisations dans l'alcool.

Th. H. Durrans (42) a employé également ce procédé.

Hugo Schiff (117) laissait tomber du chlorure de cyano-gène sur la combinaison cuivrique de l'aldéhyde salicylique $\text{Cu}(\text{O}-\text{C}^6\text{H}^4-\text{CHO})^2$, chauffée dans un tube de $+100$ à $+120^\circ$.

3° *Par réduction de l'acide 5-chlorosalicylique.*

H. Weill, M. Traun et S. Marcel (149) opéraient la réduction de l'acide 5-chlorosalicylique par l'amalgame de sodium en milieu bisulfité, maintenu faiblement acide.

4° *Au moyen de composés organiques divers.*

R. Piria (104) obtenait le chlorohélicoside en faisant absorber le chlore jusqu'à refus par l'hélicoside (glucoside à fonction aldéhyde correspondant au salicoside, cf. p. 57) en suspension dans l'eau.

Th. van Waveren (147), reprenant les travaux de Piria, ne put obtenir le chlorohélicoside par oxydation du chlorosalicoside au moyen de l'acide azotique, comme on obtient l'hélicoside à partir du salicoside. Par contre, il l'obtint facilement, en opérant comme Piria, avec quelques modifications.

Le chlorohélicoside, après cristallisation dans l'eau bouillante et refroidissement, forme des aiguilles blanches, peu solubles dans l'eau froide, facilement solubles dans l'alcool, P. F. $+166^\circ$.

Piria n'observa qu'un faible dédoublement de ce chlorohélicoside sous l'influence de l'émulsine. Th. van Waveren hydrolysa le produit par ébullition avec l'acide sulfurique dilué en glucose et aldéhyde 5-chlorosalicylique.

Nous avons déjà vu que Visser (144-145) obtenait cet aldéhyde en même temps que l'acide correspondant dans l'oxydation sulfochromique du chlorosalicoside.

Procédés utilisés. — Le procédé de choix nous a paru être celui de Peratoner utilisant le chlorure de sulfuryle. C'est de ce procédé que nous nous sommes servi. Nous avons également opéré la chloration directe de l'aldéhyde salicylique selon Piria.

2. PROPRIÉTÉS. — L'aldéhyde 5-chlorosalicylique se présente sous forme de lamelles blanches nacrées, à odeur pénétrante peu agréable, fondant à $+99^{\circ}5$. Il est très peu soluble dans l'eau (0 g., 10 par litre à $+15^{\circ}$) et les acides, assez soluble dans l'alcool, l'éther. Il se dissout dans les alcalis fixes en donnant une coloration jaune d'or. En solution alcaline (1 molécule d'alcali pour 1 mol. d'aldéhyde), il n'est décomposé que lentement. Même après 48 heures, les acides le précipitent inaltéré. Nous avons vérifié que le point de fusion n'était pas modifié.

En le dissolvant dans une solution chaude de potasse à 45° B., on peut obtenir, d'après Piria, une combinaison potassique en houppes rouges, groupées en rosettes.

Par double décomposition avec la combinaison potassique, on obtient une combinaison barytique, sous forme d'une poudre cristalline jaune, qui semble répondre à la formule :



L'action de l'ammoniac gazeux donne, d'après Piria, un imide chloré, homologue du salicylimide. Ce corps régénère ses constituants, ammoniacque et aldéhyde salicylique chloré, en s'incorporant les éléments de l'eau.

C. Bertagnini (12) a le premier signalé les combinaisons de l'aldéhyde chlorosalicylique avec les bisulfites alcalins.

Stoermer (133) en a préparé l'oxime et lui attribue pour point de fusion : $+128^{\circ}$. H. Biltz et K. Stepf (14) donnent $+122^{\circ}$.

La semicarbazone fond à $+286-287^{\circ}$.

II. — Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Le seul procédé de préparation que nous trouvions dans la littérature est un procédé par chloration directe.

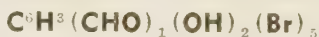
H. Biltz et K. Stepf faisaient passer pendant deux heures un violent courant de chlore sec dans 20 g. d'aldéhyde salicylique dissous dans 200 g. d'acide acétique ou de chloroforme et maintenus au bain-marie.

L. Claisen et E. Tietze (32) opéraient de la même manière.

Procédé utilisé. — Nous avons préparé l'aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique en dissolvant 12 g., 20 d'aldéhyde salicylique dans 150 cm³ de tétrachlorure de carbone et ajoutant 0 g., 50 d'iode comme catalyseur. On fait passer un courant de chlore sec, en maintenant le mélange au bain-marie au voisinage de la température d'ébullition du liquide dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. A la fin de l'opération, l'excès de dissolvant est distillé et les cristaux qui se forment par refroidissement du résidu sont purifiés par cristallisation dans l'alcool à 60°.

2. PROPRIÉTÉS. — L'aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique forme des prismes rhomboïdaux jaunes clairs (de l'acide acétique), des aiguilles (de l'alcool aqueux). Il fond à +95°. Il est très peu soluble dans l'eau (0 g., 075 par litre à +15°); il se dissout facilement dans les alcalis caustiques en donnant des sels de coloration jaune. Son oxime fond à +195-196°; sa semicarbazone à +227°.

III. — Aldéhyde 5-bromosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — La bromation de l'aldéhyde salicylique a été réalisée d'abord par Piria (103), qui faisait agir le brome directement sur l'aldéhyde salicylique.

Loewig (87-88), Heerlein (61) opéraient en solution alcoolique. Ce dissolvant fut encore utilisé en 1909 par P. Danckworth (36), en vue d'obtenir le nitrile correspondant.

K. Auwers et A. J. Walker (8) préparèrent l'aldéhyde monobromé en effectuant la réaction dans le chloroforme, suivant les indications données par C. Paal (95) pour le dérivé bromé de l'aldéhyde para isomère.

K. Auwers et O. Burger (45) faisaient tomber goutte à goutte en refroidissant 13 g., 1 de brome mélangé à une petite quantité d'acide acétique dans une solution de 20 g. d'aldéhyde salicylique dans 20 g. d'acide acétique. La solution acétique était ensuite précipitée par l'eau.

H. Lindemann et H. Forth (84) opéraient également dans l'acide acétique en présence d'acétate de sodium à $+50^{\circ}$.

W. P. Bradley (15), W. P. Bradley et F. B. Dains (16) utilisaient comme matière première l'aldéhyde disalicylique. Ce polymère était préparé par distillation sèche du sel de cuivre de l'aldéhyde salicylique, d'après Ettling (46). Il avait été également obtenu par A. Cahours (27) dans l'action du chlorure d'acétyle sur l'aldéhyde salicylique, par Gattermann (50) en faisant agir la chlorurée sur l'aldéhyde salicylique, par C. Zwenger (157) en traitant l'aldéhyde salicylique par le trichlorure de phosphore. En laissant en contact cet aldéhyde disalicylique en solution acétique avec la quantité convenable de brome, W. P. Bradley et F. B. Dains obtenaient un mélange d'aldéhydes salicyliques monobromé et dibromé, à côté d'une grande quantité d'aldéhyde disalicylique non transformé.

Henry (62) préparait ce dérivé dibromé par l'action du pentabromure de phosphore sur l'aldéhyde salicylique.

Enfin H. L. Visser (144-145) l'a obtenu à partir du bromosalicoside de la même manière que l'isomère chloré.

Procédé utilisé. — Nous avons préparé l'aldéhyde 5-bromosalicylique en opérant la bromation soit dans l'acide acétique, soit dans le tétrachlorure de carbone.

2. PROPRIÉTÉS. — L'aldéhyde 5-bromosalicylique se présente en aiguilles (de l'alcool) ou en lamelles (de l'éther). Il fond à $+104-105^{\circ}$. Il est très peu soluble dans l'eau (0 g., 09 par litre à $+15^{\circ}$), soluble dans l'alcool, l'éther. Sa solution alcoolique se colore en bleu par le perchlorure de fer. Avec les alcalis fixes et l'ammoniaque, il donne des sels jaunes (Hantsch, 55). D'après cet auteur, dans la formation de leurs sels, les aldéhydes phénols réagiraient sous la forme tautomère :



Par l'introduction d'atomes d'halogènes dans la molécule de l'aldéhyde salicylique, la tendance à former des quinoïdes jaunes s'accroît. Ainsi les aldéhydes mono- et dibromosalicyliques se dissolvent dans les liquides organiques non dissociants en solutions incolores. Dans l'eau, ils donnent une coloration jaune. Les solutions alcooliques sont également jaunes, quoique plus faiblement.

L'oxime cristallise en aiguilles incolores, fusibles à $+129^{\circ}$ (Visser). La phénylhydrazone fond à $+145-146^{\circ}$ (Piria), $+151^{\circ}$ (Auwers et Büttner).

Il donne avec les bisulfites alcalins des combinaisons cristallisées (Bertagnini).

IV. — Aldéhyde 3-5-dibromosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Ce corps avait été déjà obtenu par Loewig (87) et par Heerlein (61), en traitant par un excès de brome l'aldéhyde salicylique ou son dérivé monobromé.

E. Werner (151), H. Simonis et G. Wenzel (129) l'ont préparé par l'action de l'eau de brome sur l'aldéhyde salicylique.

H. Lindemann et H. Forth (84) effectuaient la bromation dans l'acide acétique à $+50^{\circ}$ en présence d'acétate de so-

dium, comme il a été dit pour l'aldéhyde monobromé, mais avec une quantité double de brome.

Nous avons vu plus haut que Bradley, Bradley et Dains l'obtenaient mélangé au dérivé monobromé dans la bromation de l'aldéhyde disalicylique.

B. Bihary Dey et K. Krishna Row (40) oxydaient par le permanganate en milieu alcalin la dibromocoumarine. Il se forme en même temps l'acide dibromosalicylique.

Ed. Tummeley (141) décomposait par l'eau de brome le sel de sodium de l'acide salicylaldéhyde-p-azobenzolsulfonique.

Tadae Shono (126), en traitant par le chlorhydrate d'hydroxylamine un produit qu'il considère comme un aldéhyde salicylique tribromé, obtint par perte d'un atome de brome la dibromosalicylaldoxime, d'où il est facile de passer à l'aldéhyde correspondant.

Procédé utilisé. — Nous avons effectué la bromation de l'aldéhyde salicylique dans le tétrachlorure de carbone en présence d'un peu d'iode comme catalyseur.

2. PROPRIÉTÉS. — L'aldéhyde dibromosalicylique forme des prismes jaunes clairs, fusibles à $+85^{\circ}$. Il est très peu soluble dans l'eau (0 g., 065 par litre à $+15^{\circ}$), soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, la benzine. Ses combinaisons alcalines sont jaunes. La combinaison sodique contient une molécule d'eau ; il noircit à l'air humide. La combinaison ammoniacale forme des cristaux jaunes après cristallisation dans l'alcool ou l'éther. Elle est beaucoup plus stable que celle de l'aldéhyde salicylique (A. Hantzsch, 55).

Le sel de sodium de l'aldéhyde dibromosalicylique traité au bain-marie par le sulfate de méthyle donne l'aldéhyde 2-méthoxy-3-5-dibromosalicylique. P. F. $+97^{\circ}$.

L'oxime de l'aldéhyde dibromosalicylique fond à $+218-220^{\circ}$ (H. Lindemann et H. Thiele, 85), $+225^{\circ}$ (Tadae Shono).

H. Lindemann et H. Thiele ont obtenu une combinaison

triacétylée fusible à $+99-100^{\circ}$ ($+103^{\circ}$, Simonis et Wenzel) et une combinaison monoacétylée fusible à $+71^{\circ}$ ($+90^{\circ}$, Simonis et Wenzel).

V. — Aldéhyde 5-iodosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Peu de données existent dans la littérature concernant la préparation de ce corps.

Visser (144-145), le premier, l'a obtenu en oxydant le 5-iodosalicoside par le bichromate de potassium et l'acide sulfurique.

J. Seidell (122), en cherchant à réaliser l'iodation de l'aldéhyde salicylique en milieu alcoolique en présence d'oxyde jaune de mercure, n'a pu l'obtenir à l'état pur.

Procédé utilisé. — Nous avons vainement cherché à préparer ce corps en appliquant au p-iodophénol la réaction de Reimer et Tiemann. Nous avons été plus heureux en utilisant le chlorure d'iode.

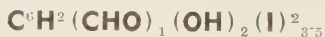
24 g., 40 d'aldéhyde salicylique sont dissous dans 50 cm³ de nitrobenzène ; on ajoute peu à peu, en agitant, 32 g., 50 de chlorure d'iode dissous dans 50 cm³ de nitrobenzène. On laisse en contact quelques heures, en agitant de temps en temps, et l'on épuise le mélange au moyen d'une solution de soude diluée. Le produit brut, obtenu par acidification de la liqueur alcaline, est soumis à plusieurs cristallisations dans l'alcool, puis dans un mélange d'une partie de chloroforme et de deux parties de ligroïne.

2. PROPRIÉTÉS. — L'aldéhyde 5-iodosalicylique constitue des aiguilles jaune pâle, fondant à $+102^{\circ}$. Il est très peu soluble dans l'eau (0 g., 05 par litre à $+15^{\circ}$).

La solution alcoolique se colore en bleu par le perchlorure de fer.

L'oxime, obtenue par Visser fondait à $+135^{\circ}$. Nous avons trouvé le même point de fusion pour l'oxime, que nous avons préparée avec l'aldéhyde iodé, obtenu par l'action du chlorure d'iode.

VI. — Aldéhyde 3-5-diiodosalicylique :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — J. Seidell (122) le préparait par action de l'iode en solution alcoolique en présence d'oxyde de mercure sur l'aldéhyde salicylique.

Th. A. Henry et Th. M. Sharp (63) traitaient par l'iode et l'iodure de potassium le dérivé diacétoxy- provenant de l'action de l'acétate de mercure sur l'aldéhyde salicylique.

Le procédé de J. Seidell ne nous ayant pas donné satisfaction, nous avons préparé l'aldéhyde diiodé, qui nous était nécessaire, par l'intermédiaire du chlorure d'iode.

12 g., 20 d'aldéhyde salicylique sont dissous dans 50 cm³ d'acide acétique cristallisable. On ajoute 10 g. d'acétate de sodium. On laisse alors tomber goutte à goutte 32 g., 50 de chlorure d'iode dissous dans 50 cm³ d'acide acétique, le mélange étant maintenu à $+50^{\circ}$. On porte finalement à $+100^{\circ}$ pendant quelques instants et l'on précipite le liquide par l'eau. On élimine l'excès d'iode par quelques bulles de gaz sulfureux. Le produit est soumis, pour le purifier, à une ou plusieurs cristallisations dans l'alcool ou dans la ligroïne.

2. PROPRIÉTÉS. — Aiguilles blanc-jaunâtre, fusibles à $+108^{\circ}$, très peu solubles dans l'eau (0 g., 035 par litre à $+15^{\circ}$), très facilement soluble dans l'acétone, plus difficilement dans les alcools méthylique et éthylique et dans la ligroïne.

Chauffé avec l'anhydride acétique et l'acétate de sodium, il se condense en diiodocoumarine.

Son oxime, préparée par J. Seidell avec le chlorhydrate d'hydroxylamine en solution hydroalcoolique chaude, charbonne à $+200^{\circ}$ sans fondre.

CHAPITRE III

SALIGENOL ET SALIGENOLS HALOGENES

A. — SALIGENOL

Le saligénol ou alcool salicylique est uni au glucose dans le salicoside (salicine) (la glucosidification affectant la fonction phénol du saligénol) et se forme dans l'hydrolyse de ce glucoside sous l'influence de l'émulsine (R. Piria, 105-106).

Plus récemment, en 1927, Torao Kitasato (73) a isolé cet alcool-phénol parmi les produits de dédoublement d'un autre glucoside, le populoside (populine). Sous l'influence de la takadiastase, le populoside donne le saligénol avec un rendement de 96 p. 100 et un benzoylglucose.

1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Si l'on excepte le dédoublement de ces glucosides naturels, le saligénol peut être obtenu au laboratoire :

1° *Par réduction de l'acide salicylique.*

La réduction de l'acide salicylique en saligénol a été tentée par plusieurs auteurs sans beaucoup de succès.

F. Somlo (132) n'a obtenu le saligénol qu'avec de très mauvais rendements en réduisant électrolytiquement l'acide salicylique en milieu hydroalcoolique et en présence d'acide sulfurique, d'après les données de C. Mettler (93-94) et de J. Tafel (134).

Par contre, B. Rutowski et A. Korolew (116) opérant cette réduction électrolytique dans les conditions utilisées par Weil (148) et par Mettler, mais en présence de butyrate de magnésium, obtinrent le saligénol avec un rendement de 45 p. 100, alors que, sans cette addition, il se forme surtout de l'aldéhyde.

2° *Par réduction de l'aldéhyde salicylique.*

A. Reinecke et F. Beilstein (109) réduisaient l'aldéhyde salicylique par l'amalgame de sodium en présence d'une petite quantité d'eau.

A. Lapworth et J. B. Shoesmith (76) opéraient cette réduction par l'amalgame de sodium en présence de bicarbonate de sodium et d'eau. J. B. Shoesmith (125) purifiait le produit à fond d'après Hart et Hirschfelder.

V. Vorhees et R. Adams (146) utilisaient au contraire pour cette réduction un oxyde de platine obtenu par fusion de l'acide chloroplatinique avec du nitrate de sodium. W. H. Carothers et R. Adams (29) préparaient leur oxyde avec le chlorure de platine et le nitrate de sodium. R. L. Shriner et R. Adams (127) employaient l'oxyde de palladium.

Goro Shima (124) réduisait l'aldéhyde salicylique en saligénol électrolytiquement en milieu maintenu faiblement alcalin par l'emploi d'une solution de bicarbonate de soude traversée par un courant de gaz carbonique, en vue de neutraliser l'alcali libéré, ou bien en milieu très faiblement acidifié par l'acide acétique, en présence d'acétate de sodium. La cathode était constituée par du mercure. Rendement en substance et en courant : 80 à 90 p. 100.

P. Mayer (91) enfin a montré que cette réduction de l'aldéhyde salicylique pouvait s'effectuer sous l'influence de la levure.

3° *Par réduction de l'amide salicylique.*

A. Hutchinson (69) réalisa la réduction de l'amide salicylique au moyen de l'amalgame de sodium dans l'alcool à 35°, acidulé par l'acide sulfurique.

Hart et Hirschfelder (56-57) opéraient de même en milieu alcoolique, mais en présence d'acide acétique. Leur procédé, que nous avons nous-même utilisé, sera décrit plus loin.

4° *Par action du formol sur le phénol en solution alcaline.*

O. Manasse (89) L. Lederer (78), Bayer l'obtenaient à côté d'alcool p-oxybenzylique en faisant agir le formol sur le phénol en présence de lessive de soude diluée.

Tadae Shono (126) a étudié le procédé de Manasse et montré qu'il est bon d'effectuer l'entraînement du phénol en excès par la vapeur d'eau sous pression réduite sans dépasser $+40^{\circ}$, pour obtenir un produit cristallisant facilement. Le saligénol peut être séparé du dérivé para, car il est beaucoup plus soluble dans le chloroforme.

5° *Par l'action du chlorure de méthylène sur le phénol en solution alcaline.*

Greene (53) chauffait 3 parties de phénol avec 3 p. de chlorure de méthylène, 4 p. de soude et 5 p. d'eau à $+100^{\circ}$.

6° *Par diazotation.*

C. Paal et H. Senninger (96) l'obtenaient par diazotation de l'alcool o-aminobenzylique en présence d'acide sulfurique dilué et chauffage de la solution du diazonium.

A. Reissert et K. Crämer (110) ont mis au point le procédé de Paal et Senninger : 5 g. d'aminoalcool sont dissous dans 10 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et 90 cm³ d'eau. On diazote, après refroidissement à -3° , jusqu'à réaction avec l'iodure de potassium amidonné. Si on laisse cette solution en repos à la température ordinaire pendant trois heures, elle se décompose totalement et l'on obtient par épuisement étheré le saligénol avec un rendement quantitatif.

Procédé utilisé. — Nous avons appliqué la méthode de Hart et Hirschfelder. Elle consiste à transformer le salicylate de méthyle en amide salicylique, qui est ensuite réduit en saligénol par hydrogénation au moyen de l'amalgame de sodium.

a) *Préparation de l'amide salicylique.* — 100 g. de salicy-

rate de méthyle sont agités mécaniquement avec 600 cm³ d'ammoniaque concentrée ($D=0,92$). Après dissolution et transformation de l'ester, on évapore le liquide sous pression réduite. Le résidu est soumis à une ou plusieurs cristallisations dans le benzène. On obtient ainsi environ 80 g. d'amide, fondant à $+135^{\circ}$.

b) Hydrogénation de l'amide salicylique. — 65 g. d'amide sont dissous dans 1.800 cm³ d'alcool à 60° . Cette solution est agitée mécaniquement et l'on introduit de temps en temps par petites portions 215 g. d'acide acétique cristallisable et 2 kgs., 700 d'amalgame de sodium à 2,75 de sodium p. 100.

(Pour préparer celui-ci, on introduit le sodium par petits fragments dans le mercure et on coule le liquide encore chaud en mince filet dans du toluène froid, ce qui permet d'obtenir un amalgame en grains fins).

Lorsque l'hydrogénation est terminée, on neutralise le mélange avec du bicarbonate de sodium, après avoir séparé le mercure. On évapore sous pression réduite jusqu'à concentration, à la moitié du volume environ et l'on épuise le résidu avec de l'éther. La solution étherée abandonne le saligénol par distillation. 65 g. d'amide fournissent environ 45 g. de saligénol.

c) Purification du saligénol. — On peut purifier le saligénol brut par cristallisations dans la benzine, puis dans le chloroforme.

Hart et Hirschfelder ont indiqué un procédé de purification basé sur la transformation du saligénol en saligénate de potassium. 10 g. de saligénol sont dissous dans 150 cm³ d'acétone ; on ajoute 35 cm³ de solution alcoolique de potasse à 25 p. 100. On recueille et sèche le précipité blanc formé. Pour obtenir le saligénol, on dissout ce précipité dans l'eau, on acidifie par l'acide acétique et on épuise à l'éther.

2. PROPRIÉTÉS. — Le saligénol se présente en tables rhomboïdales (après cristallisation dans l'eau) ou aussi en aiguilles. Il fond à $+87^{\circ}$, se sublime facilement en aiguilles. Il se

dissout dans 15 p. d'eau à $+22^{\circ}$, presque en toutes proportions dans l'eau bouillante ; il est très facilement soluble dans l'alcool et l'éther et dans 52,5 p. de benzine à $+18^{\circ}$.

Sa solution aqueuse donne une coloration violette par le perchlorure de fer. L'acide sulfurique concentré et froid donne une coloration rouge-sang par contact avec le saligénol solide.

Traité par les acides minéraux ou chauffé avec l'anhydride acétique, le trichlorure de phosphore, etc., le saligénol se transforme en produits de condensation amorphes (salirétine).

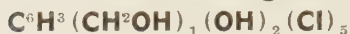
L'acide chromique, l'oxyde d'argent, l'oxygène de l'air en présence de mousse de platine (Piria) ou d'une spirale de platine (Trillat) le transforment d'abord en aldéhyde salicylique, tandis que l'action du noir de platine conduit directement à l'acide salicylique (Trillat, 140).

Le saligénol est doué de propriétés anesthésiques locales qui ont été étudiées par A. D. Hirschfelder et ses élèves.

B. — SALIGENOLS HALOGENES

Les saligénols halogénés furent isolés pour la première fois des produits de dédoublement de dérivés halogénés du salicoside. Piria (103 à 106), en 1845, avait obtenu des salicosides mono-, di- et trichlorés. O. Schmidt, en 1882 (119), obtint les bromosalicosides. Toutefois l'étude de ces dérivés était restée assez incomplète, et c'est E. Schmidt qui, avec ses collaborateurs H. L. Visser et Th. van Waveren (118, 144, 145, 147) fit, en 1897, une étude d'ensemble des salicosides et hélicosides halogénés ainsi que des acides, aldéhydes et alcools salicyliques halogénés, qui peuvent en dériver par transformations fermentaires ou chimiques. Nous avons à plusieurs reprises mentionné ces travaux au cours de cet exposé.

I. — 5-chlorosaligénol :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Le 5-chlorosaligénol a d'abord été obtenu par dédoublement du chlorosalicoside.

R. Piria obtenait le chlorosalicoside en faisant passer un courant de chlore sur le salicoside en suspension dans l'eau, à la température ordinaire et en agitant. Le salicoside se dissout peu à peu. On interrompt alors le courant de chlore et, au bout de peu de temps, le dérivé monochloré cristallise. H. L. Visser le prépara aussi par le procédé de Piria.

Après cristallisation dans l'eau chaude, le chlorosalicoside se présente en aiguilles blanches, fondant à $+154^\circ$, renfermant deux molécules d'eau de cristallisation (Piria).

Traité par l'acétate de plomb, il donne une combinaison plombique (Piria, Visser).

L'anhydride acétique le transforme en tétracétylchlorosalicoside P. F. $+130^\circ$ (H. Schiff), $+142^\circ$ (Visser).

Par oxydation du chlorosalicoside, comme nous l'avons vu, H. L. Visser et Th. van Waveren ont obtenu l'aldéhyde et l'acide 5-chlorosalicyliques, ce qui fixe sa constitution.

Dédouble par l'émulsine, le chlorosalicoside fournit le 5-chlorosaligénol, comme le salicoside donne le saligénol.

On peut également obtenir le 5-chlorosaligénol par plusieurs autres procédés :

1° *Par hydrogénation de l'aldéhyde 5-chlorosalicylique.*

P. Rivals (111) l'obtenait en laissant en contact pendant 48 heures de l'aldéhyde 5-chlorosalicylique et de l'amalgame de sodium en présence de l'eau. Lorsque la dissolution de l'aldéhyde est complète, on neutralise l'alcali par l'acide chlorhydrique et l'on fait cristalliser le chlorosaligénol dans l'eau bouillante.

Nous avons utilisé quelquefois ce procédé, mais il nous a semblé préférable, lorsque l'on veut réduire l'aldéhyde chlo-

rosalicylique par l'amalgame de sodium, d'opérer dans l'alcool à 55-60° en présence d'acide acétique, comme le font Hart et Hirschfelder dans la préparation du saligénol.

2° Par réduction de l'amide 5-chlorosalicylique.

Nous avons aussi appliqué la méthode de Hart et Hirschfelder à la réduction de l'amide 5-chlorosalicylique.

La préparation du chlorosaligénol comprend dans ce cas trois phases :

1° Préparation du 5-chlorosalicylate de méthyle selon Mazzara (voir plus haut, p. 23) ;

2° Obtention de l'amide 5-chlorosalicylique par agitation de cet ester avec l'ammoniaque ;

3° Réduction de cet amide par l'amalgame de sodium dans l'alcool à 60° en milieu acétique, selon Hart et Hirschfelder.

Rendement 50 p. 100 environ.

3° Par réduction électrolytique de l'acide 5-chlorosalicylique.

C. Mettler (93) a préparé le 5-chlorosaligénol par réduction électrolytique de l'acide 5-chlorosalicylique.

Ce procédé permet de réduire le groupe carboxyle en fonction alcool primaire en milieu alcoolique, ou mieux hydroalcoolique, et en présence d'acide sulfurique, qu'il est ensuite facile de séparer au moyen du carbonate de calcium ou de baryum. C'est la méthode de choix pour l'obtention des saligénols chlorés et bromés. Quant aux saligénols iodés, ils ne peuvent être obtenus de cette manière ; l'iode serait détaché du noyau par l'hydrogène naissant.

Voici, avec quelques détails, comment l'opération doit être conduite, d'après C. Mettler.

Une condition essentielle est d'opérer sur des produits tout à fait purs et d'éviter avec le plus grand soin la présence de toute trace de métaux étrangers, autres que le plomb des électrodes, dans le bain d'électrolyse. Dans ce but, plusieurs opérations préliminaires doivent être réalisées : pu-

rification des produits à électrolyser, lavage des cellules poreuses, préparation des électrodes.

a) *Purification des produits à électrolyser.* — Les acides halogénés seront purifiés à fond par plusieurs cristallisations successives, après avoir été transformés en sels d'ammonium et décomposés par un acide. On opérera toutes ces manipulations dans des appareils en verre, en évitant tout contact avec des spatules ou autres objets métalliques; les solutions seront filtrées sur des filtres préalablement lavés avec un acide étendu, puis à l'eau distillée.

b) *Préparation des cellules poreuses.* — Les vases poreux, qui formeront diaphragme entre l'anode et la cathode, sont d'abord maintenus immergés pendant quelques jours dans une solution de soude étendue. On les lave ensuite à l'eau distillée par aspiration à la trompe, puis avec de l'acide chlorhydrique à 5 p. 100. On les laisse encore plusieurs jours immergés dans l'acide chlorhydrique. Enfin on les lave à nouveau à l'eau distillée par aspiration et on les met sécher à l'étuve.

c) *Préparation des électrodes.* — Les électrodes doivent être entièrement en plomb pur. Avant chaque opération, on soumet la cathode à une oxydation électrolytique dans une solution aqueuse d'acide sulfurique à 20 p. 100, pendant une demi-heure, avec une densité de courant de 2 ampères par dm^2 . L'anode peut être aussi traitée de la même manière, mais ce n'est pas indispensable. Pendant cette oxydation, les électrodes prennent une teinte brune. A la fin de l'opération, on les lave à l'eau froide, puis à l'eau bouillante, et enfin à l'alcool bouillant.

d) *Dispositif de l'appareil.* — Le dispositif de l'appareil comprend un vase en verre cylindrique, de capacité convenable, dans lequel on place la cathode formée d'une feuille de plomb circulaire, que l'on applique contre la paroi intérieure du vase. Il est avantageux d'employer de grandes cathodes, plus faciles à refroidir pendant la réduction. Au cen-

tre du récipient, on place une cellule en terre poreuse, qui formera le compartiment anodique. L'anode, à laquelle on aura donné la forme d'une baguette de plomb aplatie, est maintenue au centre de la cellule poreuse.

Les bornes, reliant l'anode aussi bien que la cathode au fil conducteur, doivent être disposées en dehors de l'appareil électrolytique, pour éviter que les projections de liquide acide, qui pourraient les atteindre, ne risquent ensuite de retomber dans les solutions à électrolyser.

Les vases doivent être choisis de capacité telle que le rapport entre la surface cathodique en cm^2 et l'espace cathodique en cm^3 soit compris entre 1/1 ou 1/2.

e) *Conduite de l'électrolyse.* — On fait dissoudre dans l'alcool plus ou moins concentré, selon sa solubilité, le corps à électrolyser. La concentration en substance doit être de 10 à 20 g. p. 100 de dissolvant. On ajoute 20 à 25 p. 100 d'acide sulfurique pur. La solution ainsi obtenue est placée dans le compartiment extérieur cathodique. Dans la cellule centrale, on introduit une solution aqueuse d'acide sulfurique à 40-50 p. 100. Pendant toute la durée de l'opération, on maintient le même niveau dans les deux compartiments.

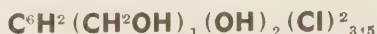
On électrolyse avec une densité de courant de 6 à 12 amp. par dm^2 . La température doit être maintenue entre $+20^\circ$ et $+30^\circ$, sous peine de diminuer les rendements.

En observant strictement les prescriptions de C. Mettler, on peut arriver par ce procédé à des rendements de 70 à 90 p. 100.

2. PROPRIÉTÉS. — Le 5-chlorosaligénol, cristallisé dans l'eau bouillante, se présente en très belles tables rhomboïdales, incolores, fondant à $+93.5^\circ$.

Il est assez soluble dans l'eau (un litre d'eau en dissout 14 g., 50 à $+15^\circ$), facilement dans l'alcool et l'éther. Sa solution aqueuse donne une coloration violette avec le perchlore de fer. L'acide sulfurique concentré colore à froid le 5-chlorosaligénol en donnant une belle coloration verte très intense. Les acides minéraux le résinifient.

II. — 3-5-dichlorosaligénol :



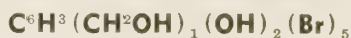
1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — R. Piria, en 1845, en traitant le chlorosalicoside ou le salicoside d'une façon prolongée par le chlore, avait obtenu le dichlorosalicoside. Cristallisé dans l'eau bouillante, ce corps forme de longues aiguilles blanches, soyeuses, inodores, amères, peu solubles dans l'eau froide, renfermant deux molécules d'eau de cristallisation. En le dédoublant par l'émulsine, Piria obtint le dichlorosaligénol. Mais, à cause de la faible solubilité du dichlorosalicoside dans l'eau, et probablement aussi à cause d'une action inhibitrice sur le ferment, l'auteur n'obtint qu'une quantité de dichlorosaligénol insuffisante pour en faire l'étude.

Nous nous sommes procuré très facilement le dichlorosaligénol en réduisant l'acide dichlorosalicylique par électrolyse selon le procédé de C. Mettler.

Par contre nous n'avons jamais pu l'obtenir par réduction de l'amide dichlorosalicylique par l'amalgame de sodium.

2. PROPRIÉTÉS. — Le dichlorosaligénol forme des aiguilles blanches, peu solubles dans l'eau (1 g., 30 par litre à $+15^\circ$), facilement dans l'alcool, l'éther. Il fond à $+82^\circ$. Il donne une coloration verte par l'acide sulfurique concentré froid.

III. — 5-bromosaligénol :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Le 5-bromosaligénol peut être obtenu :

1° *Par hydrolyse du bromosalicoside.*

Le bromosalicoside, obtenu par O. Schmidt dans l'action

de l'eau de brome sur le salicoside, présente des propriétés analogues à celles du chlorosalicoside. Il cristallise avec deux molécules d'eau et fond à $+170^{\circ}$ (Visser), $+160^{\circ}$ (Schmidt). H. L. Visser l'obtenait également en introduisant du brome jusqu'à saturation dans une solution aqueuse de salicoside rendue alcaline par la soude et en acidulant ensuite par l'acide sulfurique dilué, ce qui revenait à effectuer la bromation par le brome naissant.

Par dédoublement du bromosalicoside sous l'influence de l'émulsine, O. Schmidt obtint le 5-bromosaligénol, dont l'étude fut complétée par Visser.

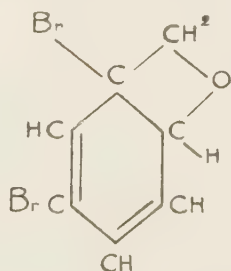
2° Par bromation du saligénol.

Par action du brome sur le saligénol en solution aqueuse sodique, H. L. Visser ne put obtenir qu'un mélange de tribromosaligénol et de tribromophénol.

K. Auwers et G. Büttner (6) par contre effectuèrent l'action de l'eau de brome sur une solution aqueuse de saligénol à basse température.

10 g. de saligénol sont dissous dans un demi-litre d'eau, on ajoute en refroidissant une solution de 13 g. de brome (1 mol.) dans deux litres d'eau. Il se forme un faible précipité blanc floconneux (dibromosaligénol). Le produit principal de la réaction, extrait de la solution aqueuse par l'éther et cristallisé dans le benzol, est constitué par le saligénol monobromé.

Il est plus avantageux, d'après ces auteurs, de préparer le bromure de bromoanhydrosaligénol.



Pour obtenir ce corps dans les meilleures conditions, il convient de n'opérer que sur de faibles quantités.

4 g., 5 de saligénol (1 mol.) sont dissous dans 20 cm³ d'éther froid et l'on fait couler dans ce liquide en l'espace de 2 à 3 minutes et en agitant un mélange de 2 cm³ de brome (1 mol.) et de 8 cm³ de chloroforme. Le liquide s'échauffe alors assez fortement, mousse faiblement et se colore en jaune clair. Pour éliminer l'eau formée dans la réaction, on abandonne le mélange pendant une nuit en contact avec du chlorure de calcium desséché ; on décante ensuite et on lave le chlorure de calcium à l'éther sec. On évapore les liquides éthérochloroformiques le plus rapidement possible dans un courant d'air à la température ordinaire. Le produit compact obtenu est séché sur une plaque poreuse. On le fait cristalliser dans la benzine chaude ». Rendement environ 60 p. 100 de la théorie.

Ce corps forme de grosses aiguilles brillantes fusibles à +98°, très facilement solubles dans les dissolvants organiques, difficilement toutefois dans l'acide acétique froid, la ligroïne, l'éther de pétrole. Il est insoluble dans les alcalis.

Pour le transformer en bromosaligénol, il suffit de le faire bouillir avec de l'acétone aqueuse, jusqu'à ce que le produit soit soluble dans les alcalis (acétone 3 parties, eau 1 partie pour 1 partie du corps à transformer).

L. Knorr et H. Hörlein (74) ont préparé le bromosaligénol en effectuant la bromation en solution aqueuse, d'après le premier procédé d'Auwers et Büttner. Ils ont obtenu l'éther méthylique par action de la potasse alcoolique et de l'iodure de méthyle : $C^6H^3(CH^2OH)_1(OCH^3)_2(Br)_5$, P. F. : +75°.

R. Adams, A. W. Sloan et B. S. Taylor (1) l'ont aussi préparé par la méthode d'Auwers et Büttner légèrement modifiée.

Une solution de 50 g. (1 mol.) de saligénol dans 2 l., 5 d'eau glacée était placée dans un flacon de douze litres. A cette solution, on ajoutait en maintenant la température à +5-10° et agitant mécaniquement 9 l. d'eau bromée contenant 65 g. de brome (1 mol.). Durée de l'addition: 2 heures. La solution était ensuite filtrée et extraite avec 3 ou 4 litres d'éther.

3° *Par réduction de l'aldéhyde 5-bromosalicylique.*

Tadae Shono (126) l'obtint en réduisant par l'amalgame de sodium l'oxime de l'aldéhyde dibromosalicylique (obtenu lui-même avec l'aldéhyde tribromosalicylique).

Nous avons tenté d'opérer la réduction de l'aldéhyde 5-bromosalicylique d'après Rivals en solution alcaline. Nous n'avons pu ainsi obtenir qu'un mélange de saligénol et de bromosaligénol, dans lequel prédomine le saligénol.

Cette réduction s'opère au contraire très facilement en milieu hydroalcoolique en maintenant constamment le liquide légèrement acide par l'acide acétique selon la technique de Hart et Hirschfelder. Rendement environ 75 p. 100.

4° *Par réduction de l'acide 5-bromosalicylique.*

Comme pour les saligénols chlorés, la réduction électrolytique de l'acide 5-bromosalicylique, selon les données de C. Mettler, nous a paru la méthode de choix pour la préparation du 5-bromosaligénol.

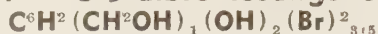
2. PROPRIÉTÉS. — Le 5-bromosaligénol constitue de grandes feuilles brillantes nacrées, fondant à $+107-109^{\circ}$, facilement solubles dans l'alcool, l'éther, l'ester acétique, un peu moins dans le chloroforme et la benzine, difficilement dans la ligroïne, peu solubles dans l'eau froide (5 g., 40 par litre à $+15^{\circ}$), facilement dans l'eau chaude. La solution aqueuse donne une coloration bleue par le perchlorure de fer.

Le bromosaligénol est coloré en vert intense par l'acide sulfurique concentré.

Il donne par oxydation sulfochromique l'aldéhyde 5-bromosalicylique.

Hart et Hirschfelder ont préparé le sel de potassium, fines plaques blanches, microscopiques, très solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool, peu solubles dans l'éther et l'acétone.

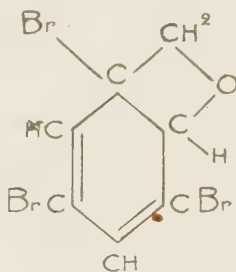
IV. — 3-5-dibromosaligénol :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Le 3-5-dibromosaligénol, qui se forme dans l'hydrolyse du dibromosalicoside par l'émulsine, peut s'obtenir par l'action de l'eau de brome sur le saligénol (Auwers et Büttner).

Les mêmes auteurs l'ont obtenu au moyen du bromhydrate de dibromoanhydrosaligénol, obtenu comme il a été dit pour le dérivé monobromé, mais en doublant la quantité de brome.

Ce bromhydrate de dibromoanhydrosaligénol



a été obtenu facilement par Th. Zincke (155) en faisant agir le brome à température élevée sur le mono- ou le dibromo-o-crésol. L'auteur chauffait au bain d'huile à $+170^\circ$ et faisait passer dans la masse, à l'aide d'un faible courant d'air, la quantité calculée de brome sous forme de vapeur. (On peut aussi laisser tomber goutte à goutte le brome sur le dibromure chauffé à $+115-120^\circ$). Le produit est purifié par cristallisation dans le benzène.

Obtenu selon Auwers et Büttner ou selon Zincke, ce pseudo-bromure fond à $+116-118^\circ$. Il est transformé par l'ébullition avec l'acétone aqueuse en dibromosaligénol dans les mêmes conditions que le dérivé monobromé.

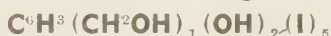
La méthode de C. Mettler est applicable ici encore. La ré-

duction électrolytique de l'acide 3-5-dibromosalicylique donne avec de bons rendements le 3-5-dibromosaligénol.

Nous avons préparé ce corps principalement par la méthode d'Auwers et Büttner et aussi par réduction de l'aldéhyde dibromosalicylique par l'amalgame de sodium en solution hydroalcoolique acidulée par l'acide acétique, dans les conditions déjà indiquées.

2. PROPRIÉTÉS. — Le 3-5-dibromosaligénol fond à $+89^{\circ}$. Il est peu soluble dans l'eau froide (0 g., 68 par litre à $+15^{\circ}$), facilement soluble dans l'alcool, l'éther, l'ester acétique, l'acétone, moins soluble dans le chloroforme, la benzine et la ligroïne. Sa solution aqueuse donne une coloration bleue par le perchlorure de fer.

V. — 5-iodosaligénol :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — L'iodosaligénol n'a pu être obtenu jusqu'à présent que par iodation directe ou indirecte soit du saligénol, soit du salicoside et dédoublement ultérieur de ce dernier.

H. L. Visser préparait l'iodosalicoside en traitant une solution aqueuse de salicoside par une solution chlorhydrique de chlorure d'iode.

L'iodosalicoside cristallise avec deux mol. d'eau ; il fond, anhydre, à $+192^{\circ}$. Sous l'influence de l'émulsine, il est dédoublé en 5-iodosaligénol et glucose.

F. Litterscheid, d'après H. L. Visser, obtint l'iodosaligénol en ajoutant à une solution aqueuse de saligénol, additionnée de soude, une solution d'iode dans l'iodure de potassium, la liqueur étant maintenue constamment alcaline. Après acidification par l'acide sulfurique étendu, il purifiait le précipité par plusieurs cristallisations dans le chloroforme.

Johannes Seidell (123) préparait ce corps par l'action de l'iode sur le saligénol en solution alcoolique en présence d'oxyde de mercure.

Merril C. Hart et A. Hirschfelder (57) l'obtinrent en abandonnant pendant une semaine, autant que possible à la lumière solaire, une solution aqueuse de saligénol additionnée de solution iodo-iodurée.

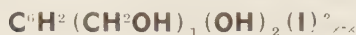
Nous avons préparé l'iodosaligénol par le procédé de F. Litterscheid, légèrement modifié. 25 g., 40 d'iode sont dissous dans 60 cm³ de lessive de soude dilués dans 250 cm³ d'eau distillée. On ajoute 12 g., 40 de saligénol et, après dissolution de celui-ci dans la liqueur alcaline, on acidifie lentement en refroidissant sous un courant d'eau, avec de l'acide sulfurique dilué au dixième. L'iode non combiné est ensuite éliminé par quelques centimètres cubes de solution de bisulfite de sodium. Le précipité obtenu, souvent résinifié en partie, est soumis à plusieurs cristallisations dans la benzine, puis dans le chloroforme.

2. PROPRIÉTÉS. — Le 5-iodosaligénol constitue des feuilles blanches triangulaires, après cristallisation dans l'eau. Il fond à +138°. Il est assez soluble dans l'eau chaude, peu soluble dans l'eau froide (0 g., 90 par litre à +15°, facilement soluble dans l'alcool et l'éther. Il est stable à l'ébullition avec l'acide sulfurique dilué (différence avec le saligénol, Seidell). Il donne avec le perchlorure de fer, en solution aqueuse, une coloration violette.

Le sel de potassium a été préparé par Hart et Hirschfelder. Plaques cristallines, très solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool, peu solubles dans l'acétone et l'éther.

La constitution de l'iodosaligénol a été établie par H. L. Visser, qui l'a caractérisé comme étant le 5-iodosaligénol.

VI. — X-X-diiodosaligénol :



1. PROCÉDÉS DE PRÉPARATION. — Le diiodosaligénol a été peu étudié jusqu'à présent. H. L. Visser l'a obtenu par iodation du saligénol en solution alcaline avec le mélange iodo-ioduré, comme il est dit ci-dessus, en doublant la quantité d'iode.

J. Seidell faisait agir l'iode en solution alcoolique sur le saligénol en présence d'oxyde de mercure. Il séparait les produits obtenus au moyen d'une solution de carbonate de sodium ; le diiodosaligénol passait en solution, entraînant un peu de dérivé monoiodé. On le précipitait par l'acide chlorhydrique et le purifiait par cristallisation dans l'alcool étendu.

Nous l'avons obtenu par iodation du saligénol en solution alcaline, selon Visser.

2. PROPRIÉTÉS. — Le diiodosaligénol forme de petites aiguilles fusibles à $+106-107^\circ$. Il est peu soluble dans l'eau froide (0 g., 25 par litre à $+15^\circ$), très facilement soluble dans l'alcool, moins dans l'éther.

La place occupée par les atomes d'iode dans le noyau n'a pas encore été déterminée de façon certaine ; il paraît cependant logique d'admettre qu'il s'agit bien du 3-5-diiodosaligénol.

CONCLUSIONS DE LA PREMIERE PARTIE

Nous avons collationné dans cette première partie les diverses méthodes qui ont été publiées pour l'obtention des dérivés mono et dihalogénés des acide, aldéhyde et alcool salicyliques. Parmi tous ces procédés, nombreux sont ceux qui ne constituent que de simples modes de formation et ne sauraient être pris en considération pour la préparation de ces corps dans un laboratoire. Nous avons cherché à discerner et à mettre en pratique les plus intéressants par leur facilité d'application et leurs rendements avantageux.

Si maintenant nous envisageons dans leur ensemble les méthodes de préparation auxquelles nous nous sommes rallié, nous pouvons les ranger en trois groupes principaux : procédés par *halogénéation directe*, procédés par *halogénéation indirecte*, procédés par *réduction*.

Les procédés par *halogénéation directe* ont été utilisés pour la chloration ou la bromation de l'acide salicylique, du salicylate de méthyle et de l'aldéhyde salicylique. Généralement l'action de l'halogène était pratiquée sur des corps en dissolution ou en suspension dans un véhicule liquide (acide acétique, sulfure ou tétrachlorure de carbone, nitrobenzène) avec au besoin addition d'un catalyseur (iode, fer, aluminium). On peut aussi employer l'halogénéation directe pour l'obtention des dérivés bromés du saligénol, mais en opérant avec précaution. Pour la préparation des dérivés iodés, l'iodation directe n'a pu être appliquée que dans le cas de l'acide salicylique monoiodé et de l'ester méthylique de l'acide diiodosalicylique. Encore faut-il avoir soin d'ajouter de l'oxyde de mercure pour éliminer, au fur et à mesure de sa formation, l'acide iodhydrique produit dans la réaction.

Les procédés par *halogénéation indirecte* doivent cependant avoir la préférence dans certains cas particuliers. C'est ainsi que le 5-chlorosalicylate de méthyle et l'aldéhyde 5-chlorosalicylique ont été très facilement obtenus en employant le chlorure de sulfuryle. Le mélange perhydrol et acide chlorhydrique a été utilisé pour la préparation de l'acide 3-5-dichlorosalicylique. Enfin l'iodation indirecte a été effectuée en employant soit le chlorure d'iode (acide 3-5-diiodosalicylique et aldéhydes salicyliques iodés), soit l'iode en solution alcaline (iode naissant provenant de la décomposition d'un hypoiodite) pour les iodosaligénols.

Le saligénol et ses dérivés chlorés et bromés ont été obtenus par *réduction* des acides et amides correspondants. Le saligénol et le 5-chlorosaligénol peuvent être obtenus respectivement par réduction des amides salicylique et 5-chlorosalicylique au moyen de l'amalgame de sodium en milieu acétique. Le procédé le plus intéressant, toutefois pour la préparation des saligénols chlorés et bromés est la réduction électrolytique des acides correspondants. Quant aux saligénols iodés, ils ne peuvent être obtenus par réduction, l'hydrogène en se dégageant ayant pour effet de séparer trop facilement l'iode du noyau dans les conditions opératoires requises.

En dehors de ces trois groupes principaux, nous avons aussi eu recours pour certains esters méthylsalicyliques halogénés à l'estérification de l'acide correspondant par l'alcool méthylique en présence de l'acide sulfurique.

Après avoir exposé les modes de préparation, nous avons ensuite rappelé les principales propriétés des corps ainsi obtenus. Nous retiendrons seulement ici, pour la suite de ce travail, la très faible solubilité dans l'eau des dérivés étudiés.

D'une manière générale l'halogénéation diminue considérablement la solubilité comparativement au dérivé salicylique

non halogéné. Les dérivés dihalogénés sont beaucoup moins solubles que les dérivés monohalogénés correspondants. Dans chaque série de corps, aussi bien pour les dérivés monohalogénés que pour les dihalogénés, la solubilité va en décroissant du dérivé chloré au bromé puis à l'iodé.

D'autre part, si l'on considère les groupements fonctionnels, la solubilité diminue des alcools-phénols halogénés aux acides phénols halogénés, puis aux aldéhydes phénols halogénés. Ces derniers sont quasi insolubles dans l'eau, la plus forte solubilité observée ne dépassant pas 0 g., 10 par litre.

DEUXIEME PARTIE

INTRODUCTION

PRINCIPAUX FACTEURS CONDITIONNANT L'ACTION ANTIBACTERIENNE DES SUBSTANCES CHIMIQUES

Dans la *première partie*, nous venons d'indiquer le mode de préparation d'un certain nombre de dérivés mono et di-halogénés des acide, aldéhyde et alcool salicyliques.

Tous ces corps possèdent dans leur molécule un oxhydryle phénolique. Or, de toutes les fonctions de la chimie organique, c'est précisément la fonction phénol qui exerce l'influence prépondérante sur l'action antimicrobienne, en sorte que beaucoup de désinfectants organiques, et non les moins importants, appartiennent au groupe des composés phénoliques.

Les corps que nous avons étudiés sont en outre des dérivés halogénés. Etant donné le grand pouvoir désinfectant des éléments halogènes (chlore, brome, iode) à l'état libre, leur introduction dans une molécule organique a été depuis longtemps regardée comme devant renforcer l'action antimicrobienne du corps considéré. L'expérience a le plus généralement confirmé cette manière de voir, comme il ressort des nombreux travaux que nous analyserons plus loin.

Ces deux considérations montrent qu'en faisant varier la constitution des corps on influera nécessairement sur le pouvoir désinfectant. La première idée qui se présente à l'esprit

serait donc de rapporter à la constitution chimique seule les propriétés désinfectantes des corps, comme aussi leurs autres propriétés biologiques.

Les choses ne se passent pas toutefois de façon aussi simple.

I. Traube et F. Dannenberg (533), L. H. Baldinger et Y. A. Niewland (163), Th. Sabaltischka (475), pour ne citer qu'eux parmi une vaste littérature, rappellent que l'influence de la constitution chimique sur l'action biologique, et en particulier sur l'action antimicrobienne, est conditionnée, non seulement par la structure de la molécule, mais en même temps par les propriétés physiques des substances envisagées.

Si donc, dans certains groupes, on peut établir une corrélation très nette entre la constitution chimique et l'action biologique (il en est ainsi pour les corps à action chimique directe, par exemple les éléments halogènes à l'état libre), cette corrélation ferait par contre le plus souvent défaut, si l'on voulait généraliser en cherchant à l'étendre à de nombreux corps appartenant à des séries très différentes.

C'est ainsi, par exemple, comme Kindler (330) l'a montré, que le pouvoir antiseptique des combinaisons halogénées, telles les chloramines, l'iodoforme, est en relation avec la plus ou moins grande labilité de l'halogène ; il en est de même pour les aristols ; mais pour beaucoup d'autres combinaisons aromatiques halogénées dans le noyau, leur grand pouvoir antiseptique ne peut s'expliquer de cette façon.

La constitution chimique n'est donc que l'un des facteurs de l'action biologique ou bactéricide et il ne faut pas songer à tirer de cette seule considération des conclusions générales, quant aux variations possibles de cette action.

Il y a lieu aussi d'examiner en même temps comment des variations dans la structure moléculaire d'une substance modifient les propriétés physiques de celle-ci.

Les désinfectants étant le plus souvent destinés à agir en solutions (liquides aqueux ou solvants organiques), on devra donc tenir compte des propriétés de ces solutions non seulement au point de vue chimique, mais aussi au point de vue

physique (tension superficielle, concentration en ions hydrogène, coefficients de partage entre le solvant et les constituants cellulaires, particulièrement les lipides, charges électriques, état colloïdal, lois régissant l'osmose et le gonflement...).

Avant d'étudier l'action antimicrobienne des composés phénoliques, qui font l'objet de ce travail, il est donc utile d'esquisser rapidement (sans avoir la prétention de recenser complètement dans ce court exposé les très nombreux Mémoires ayant trait à la théorie de la désinfection) ce que nous savons du mode d'action des désinfectants sur les microorganismes.

MODE D'ACTION DES DESINFECTANTS SUR LES MICROORGANISMES

Le processus de l'action d'un désinfectant aboutissant à la destruction des microorganismes comprend vraisemblablement plusieurs temps. On peut admettre en effet que dans un *premier temps* la substance se fixe sur la couche limitante du protoplasma, puis pénètre dans un *deuxième temps*, à l'intérieur de la cellule et là, dans un *troisième temps*, provoque des modifications plus ou moins graves pouvant aller jusqu'à la mort des microbes soumis à son action.

Premier temps : FIXATION DU DÉSINFECTANT SUR LA COUCHE LIMITANTE DU PROTOPLASMA.

Influence de la tension superficielle et de l'adsorption. — Lorsqu'un microorganisme se trouve en présence d'une solution antiseptique, le premier stade est évidemment une fixation de la substance sur la couche limitante de ce microorganisme. Cette fixation se fait le plus souvent par adsorption. Ainsi H. Béchold (167) admet que l'adsorption joue un rôle capital dans la première phase de la désinfection. R. O. Herzog et R. Betzel (311) ont trouvé que la fixation de différents

antiseptiques (nitrate d'argent, sublimé, chloroforme, phénol), sur les cellules de levure se fait selon un processus d'adsorption, qui peut être réversible. Kuster et Bojakowski (364), Kuster et E. Rothaub (365) ont montré que l'adsorption du phénol par les bactéries dépend de la quantité de bactéries, de la durée de l'action et de la concentration du phénol ; le phénol est lié d'une façon labile et libéré à nouveau après la mort des bactéries.

L'adsorption étant elle-même fonction de la tension superficielle des solutions, on voit que, dans ce premier stade de l'action antiseptique, la tensioactivité des produits en solution est appelée à jouer un rôle important. Et en effet beaucoup de chercheurs ont mis en évidence un notable parallélisme entre l'activité de surface d'une substance et son action sur les microorganismes. Citons J. Christiannsen (214) pour la désinfection par différents alcools, F. Eschbaum (257), J. Traube (531) pour les dérivés de la quinine, S. Rideal, E. K. Rideal et A. Sciver (459) pour certaines huiles essentielles.

Dans la série des acides gras monobasiques, l'activité antiseptique va en croissant de l'acide acétique à l'acide butyrique et varie ainsi dans le même sens que la tensioactivité (D. Bach, 162).

Martin Frobisher (278) a montré lui aussi que l'action bactéricide du phénol et de l'hexylrésorcinol sur les bacilles typhiques est augmentée quand on diminue la tension superficielle par addition de quantités appropriées d'oléate de sodium ou d'acétate d'éthyle.

De même pour V. Léonard et M. Frobisher (388) l'action bactéricide de l'hexylrésorcinol employé comme antiseptique urinaire est due à l'abaissement de la tension superficielle de l'urine par cette substance. Veader Leonard et William A. Feirer (387) indiquent aussi que l'hexylrésorcinol est moins actif dans le glycérol que dans l'eau, parce que dans le glycérol la tension de surface est bien moins diminuée que dans l'eau.

De son côté J. Traube (530) ne considère la constitution chimique ou la configuration moléculaire pour d'importantes

séries de médicaments (narcotiques, désinfectants, alcaloïdes, toxines...) que pour autant qu'elle influence la tension superficielle et les nombreuses propriétés qui en dépendent.

P. Rona et L. Michaelis (465) ont établi par ailleurs que la diminution de l'action du sublimé par addition d'un chlorure marche de pair avec la diminution de l'adsorbabilité du sublimé par le charbon comme conséquence de la formation de sels complexes.

On ne saurait cependant généraliser à l'excès. La tension superficielle ne peut pas donner, à elle seule, une mesure de l'activité germicide ; beaucoup de substances tensioactives ne sont pas des agents de désinfection, par exemple les savons, l'albumine, la gélatine (E. Hailer, 297). J. Traube lui-même fait remarquer que le parallélisme entre l'activité de surface et l'action bactéricide ne peut être observé de façon constante, car la grandeur de l'adsorption dépend aussi d'autres facteurs. C'est ainsi que les acides benzoïque et salicylique en solution subissent une adsorption notablement plus forte que ne le voudrait leur activité de surface relativement faible (Th. Sabalitschka, 475). Cesar Pi Suner Bayo (207) n'a trouvé lui non plus aucun parallélisme entre la tensioactivité et l'action sur la levure, le *Bacterium coli* et le *Proteus vulgaris*, pour les six substances suivantes : acide salicylique et salicylate de sodium, acide benzoïque et benzoate de sodium, ester propylique de l'acide p-oxybenzoïque et dérivé sodé de cet ester. Par contre un parallélisme a été observé entre l'action de ces substances et la répartition entre l'éther et l'eau d'une part et la faculté d'adsorption d'autre part.

La nature de l'adsorbant n'est pas non plus indifférente. Th. Sabalitschka a montré, avec F. Finger (488), que l'adsorption des différents membres d'une même série homologue n'est pas toujours en « symbasie » avec l'activité de surface de la substance considérée. Par exemple certains corps d'une même série homologue sont adsorbés d'autant plus fortement par le charbon du sang que leur poids moléculaire est plus élevé, conformément à la règle de Traube,

par contre ils sont adsorbés plus faiblement par le charbon de sucre. Le fait est confirmé par les recherches de B. Nekrassow (430) et de M. B. Hollaender (315).

On conçoit par conséquent que des microorganismes particuliers pourront se comporter différemment quant à l'adsorption d'une même substance. Le parallélisme entre l'activité de surface ou la grandeur de l'adsorption d'une part et l'action sur les microorganismes d'autre part, parallélisme fréquemment observé, ne saurait par conséquent se retrouver obligatoirement dans tous les cas.

Si utiles donc que soient les recherches théoriques ayant trait à l'adsorption des désinfectants chimiques par le charbon pour nous renseigner sur le comportement possible des microorganismes vis-à-vis de ces substances, les résultats de ces recherches ne sauraient être appliqués sans discrimination à l'action de ces mêmes produits dans les conditions naturelles (K. Meyer, 416).

Notons ici que l'abaissement de la tension superficielle d'un milieu nutritif peut déterminer des perturbations importantes soit temporaires, soit permanentes, dans la vie des bactéries et affectant soit leur forme, soit leur végétation, soit leur pouvoir chromogène (Ph. Lasseur, P. Vernier, A. Dupaix et L. Georges, 375).

Indépendamment de l'adsorption ou concurremment avec elle, la fixation du désinfectant sur la couche limitante de la bactérie peut aussi se faire par précipitation sur la surface cellulaire ou par solubilisation dans les lipides qu'elle peut contenir.

A ce premier stade (fixation sur la couche limitante), le phénomène peut être simplement réversible comme aussi la bactérie peut déjà s'en trouver atteinte dans ses fonctions vitales (empêchement des échanges métaboliques, de la respiration...).

Influence de la concentration en ions hydrogène et de l'état de dissociation. — Il est connu que les milieux destinés à la culture des microbes doivent être amenés à un pH convenable pour chaque espèce et qui varie d'ailleurs dans d'étroites limites. De même la concentration en ions hydrogène du milieu dans lequel doit agir un désinfectant aura évidemment une influence favorable ou défavorable sur l'action de celui-ci (Barnett Cohen, 218).

Sans entrer dans de trop longs développements, citons quelques exemples.

D'après G. Joachimoglu (322), l'action du sublimé est renforcée en milieu fortement acide (pH 4,4 à 3,5) ou fortement alcalin (pH 11 à 12) et nulle en milieu faiblement alcalin (pH 7,8 à 8,9). Selon T. Kuroda (363), l'action des phénols et aussi celle des acides aromatiques (benzoïque et salicylique) est maxima en réaction acide et minima aux environs de la neutralité. Ici encore on observerait une action antiseptique en milieu fortement alcalin.

W. v. Cruess et P. H. Richert (232) remarquent que l'action retardatrice du benzoate de sodium sur la fermentation alcoolique et sur divers microorganismes est beaucoup plus grande dans la zone de pH de 2,5 à 4,5 que dans celle allant de 5 à 9.

Ph. Lasseur et Serra (374) ont confirmé pour le violet cristallisé la théorie de Loeb, d'après laquelle pour un pH inférieur à 4,7 (point isoélectrique) les protéines ne peuvent se combiner qu'à l'anion d'un électrolyte et au contraire du côté alcalin du point isoélectrique, les protéines ne se combinent qu'au cation. Le travail de Serra fait voir qu'il est possible d'augmenter le pouvoir antiseptique du violet cristallisé lorsqu'on le fait agir dans une zone de pH convenable, de 4,7 à 7,1.

A remarquer en passant que la concentration en ions hydrogène influe sur les constantes physicochimiques des suspensions bactériennes. Aux environs de pH 3,4 le gonflement des corps microbiens est minimum (Ph. Lasseur, A. Dupaix et M. Grojean, 373).

De légers changements dans la concentration en ions hydrogène, par exemple entre 5 et 8, influent de façon remarquable sur l'action désinfectante de diverses matières colorantes : trypaflavine, vert de méthyle, bleu de méthylène. Les matières colorantes acides voient leur efficacité augmentée quand l'acidité augmente; l'activité des matières colorantes basiques au contraire est élevée quand l'acidité décroît (L. Fleischer et S. Amster, 270).

Pour Traube et Somogyi (534) une combinaison tensio-active ne manifeste de propriétés antimicrobiennes que si elle présente le caractère acide ou basique, autrement dit si elle contient des ions H ou OH ou si elle forme des sels susceptibles de se dissocier en donnant des ions H ou OH.

D. Bach (162) conclut par contre d'une étude sur le pouvoir antiseptique des quatre premiers termes de la série des acides gras monobasiques, que l'action inhibitrice de ces acides se manifeste généralement par une concentration déterminée de l'acide non ionisé, quelles que soient la concentration en ions H ou celle de l'acide total. Ainsi se trouverait démontré que l'action inhibitrice de ces acides organiques est bien due à leur molécule non dissociée. Cette action antiseptique des acides gras sous la forme non ionisée serait à rapporter à la perméabilité de la cellule pour les molécules non ionisées.

Les halogénures, sulfocyanure et cyanure de mercure (B. Krönig et Th. Paul, 360) le sublimé (W. Hellebrand et G. Joachimoglu, 308), le bromure de mercure (G. Joachimoglu et Klissiunis, 324), le chlorure de cuivre (Klissiunis, 344), le p-chlorophénol (W. E. Engelhardt, 256) ne sont pas antiseptiques dans des solvants de faible constante diélectrique et leur action antiseptique augmente avec la dissociation électrolytique. Par contre l'action antiseptique du phénol ne montre aucun rapport avec la constante diélectrique de la solution (W. E. Engelhardt).

Ces quelques exemples font voir que l'influence de la concentration en ions hydrogène et de l'état de dissociation est variable selon les corps considérés et n'est encore connue que d'une manière assez imparfaite.

Pour en terminer avec l'examen des facteurs conditionnant la fixation du désinfectant sur la couche limitante de la bactérie, notons encore le fait que si cette couche limitante contient des lipides, la solubilité du désinfectant dans ceux-ci est également à considérer, comme nous allons le voir dans le deuxième temps.

Deuxième temps : PÉNÉTRATION DU DÉSINFECTANT DANS L'INTÉRIEUR DE LA CELLULE.

La substance une fois adsorbée sur la couche limitante du protoplasma, va pénétrer dans l'intérieur de la cellule. A ce deuxième stade entrent en jeu principalement la solubilité dans les lipides et le coefficient de partage du désinfectant entre ceux-ci et l'eau, et en outre les lois de l'osmose.

Influence de la solubilité dans les lipides. — Dans cette deuxième phase, nous avons à prendre en considération la théorie d'Overton et Meyer. Les substances peu solubles dans l'eau, donc à grande activité de surface en solution aqueuse, et très solubles dans les huiles, passeront facilement dans celles-ci et partant dans les lipides cellulaires. C'est par ce mécanisme que pénètrent les substances liposolubles et l'on observe souvent dans ce cas une concordance très nette entre l'activité de surface, qui conditionne le coefficient de partage eau/huile, donc le passage vers les lipides, et l'action sur les microorganismes. P. G. Vermast (547), par exemple, a montré qu'en solution neutre ou acide les acides benzoïque et salicylique pénètrent dans la cellule vivante en conformité avec la loi des coefficients de partage (et aussi avec la dissociation électrolytique). T. C. Daniels et R. E. Lyons (235) ont aussi constaté ce même parallélisme entre

solubilité, adsorption et coefficient de partage eau/lipides pour les homologues de l'acide benzoïque. Observations semblables de J. Boeseken et H. Watermann (184, 185), J. Con-delli (220), en ce qui concerne l'empêchement du développement du *Penicillium glaucum* ; l'empêchement était d'autant plus grand que la solubilité dans l'huile était elle-même plus élevée que la solubilité dans l'eau. Parmi les corps qu'ils ont étudiés, citons : phénol, pyrocatechinol, résorcinol, hydroquinone, pyrogallol, phloroglucinol, acides benzoïque, o-, m- et p-oxybenzoïques, etc... Pour J. Boeseken et H. Watermann d'ailleurs, suivant la valeur du rapport entre les solubilités dans l'eau et dans les lipides, un corps sera soit un aliment, soit un désinfectant. [Ces auteurs ont même institué une méthode biochimique pour la détermination de petites quantités d'acide salicylique en présence d'un excès d'acide p-oxybenzoïque (186).]

Les expériences de J. Traube (532), J. Traube et S. Yumikara (535), S. Yumikara (577), T. Tomita (529) rendent compte également de cette influence de la liposolubilité. Des substances à grosses molécules solubles dans les lipides passent plus vite, et même exclusivement, à travers un gel de gélatine contenant des lipides que les substances à petites molécules et ce phénomène est d'autant plus accusé que la teneur en lipides est plus élevée. Pour le phénol le coefficient de partage est plus élevé en réaction acide qu'en réaction neutre, ce qui va de pair avec l'action antiseptique.

D'autre part des combinaisons, dont on était en droit d'attendre un effet inhibiteur vis-à-vis du développement de la levure par analogie avec d'autres substances de constitution semblable, mais différant de celles-ci par leur insolubilité dans les lipides, se sont montrées inactives, ex. : fluorène, chlornitro- et chlordinitrobenzol (J. Gössl, 287).

La théorie d'Overton explique aussi pourquoi le phénol en solutions alcooliques ou huileuses est beaucoup moins désinfectant qu'en solution aqueuse (R. Koch, 349 ; H. Bechold, 167 ; Krönig et Paul, 360 ; Wolffhügel et v. Knorre, 569 ; R. Minervini, 417).

Le coefficient de partage du sublimé entre les lipides et l'eau s'abaisse et tend à devenir nul à mesure que l'on ajoute du chlorure de sodium à la solution. En conséquence la puissance antiseptique du sublimé décroît par suite : 1° de la diminution de la concentration des ions Hg, résultat de la transformation de Cl^2Hg en Cl^4HgNa^2 ; et 2° de la diminution du nombre des molécules liposolubles Cl^2Hg . Il en est de même pour $\text{Br}^2\text{Hg} + \text{BrK}$, et pour $(\text{CN})^2\text{Hg} + \text{CNK}$ (E. Krahe, 359).

Au contraire, pour le phénol, l'action serait augmentée par addition de chlorure de sodium, parce que cette addition rendrait plus facile le passage du désinfectant de la solution aqueuse vers les lipides (Scheurlen, 499 ; Scheurlen et Spiro, 500 ; J. W. Beckmann, 172 ; K. Spiro et H. Bruns, 516 ; H. Reichel, 453, 454 ; Eisenberg et M. Okolska, 252). S. Lambin (370) n'a toutefois pu retrouver ce renforcement de l'action désinfectante du phénol sous l'influence du chlorure de sodium.

Quant aux substances non liposolublées, l'eau p. ex., cas le plus simple, la théorie d'Overton est en défaut pour expliquer leur pénétration et c'est pourquoi Nathanson (428) émit sa théorie de la « mosaïque ». Il considérerait la « membrane » comme formée par une mosaïque de particules lipidiques et non lipidiques. Les premières laisseraient passer les substances liposolubles selon la théorie d'Overton et les secondes les substances solubles dans l'eau.

Remarquons en passant que si la teneur de la couche limitante en lipides est suffisamment élevée, la cellule peut être protégée contre une pénétration plus avancée de la substance toxique. C'est ce qu'ont observé F. Boas (183) avec la levure et E. Hailer (298) pour le bacille tuberculeux.

Quelque importante que soit l'influence de la solubilité dans les lipides pour le passage des désinfectants à l'intérieur de la cellule, il ne faudrait pas cependant vouloir en faire la seule cause de l'action bactéricide. De trop nom-

breuses exceptions ont été signalées, tels les exemples suivants que relate E. Hailer (297). L'action antibactérienne diminue du formiate d'éthyle $\text{H-CO}^2\text{-C}^2\text{H}^5$ à l'acétate $\text{CH}^3\text{-CO}^2\text{-C}^2\text{H}^5$ et au propionate $\text{CH}^3\text{-CH}^2\text{-CO}^2\text{-C}^2\text{H}^5$, bien que la liposolubilité augmente en sens inverse. L'acide carbamique et l'ester phénylcarbamique, bien que facilement liposolubles, sont sans action sur le bacille paratyphique. Les éthers oxydes phénoliques plus facilement solubles dans les lipides que les phénols libres sont moins actifs que ces derniers. Parmi les éthers de diphénols, les monoéthers difficilement solubles dans les lipides agissent mieux que les diéthers plus facilement solubles dans ces substances : l'eugénol est plus antiseptique que son éther méthylrique.

Influence de l'osmose. — Indépendamment de la liposolubilité, la pénétration dans la couche limitante puis dans l'intérieur de la cellule se produit également pas osmose. On conçoit facilement qu'une substance traversera une membrane par osmose d'autant plus lentement que son volume moléculaire sera plus grand. Les particules de substance devant passer soit à travers les pores d'une membrane gélifiée, soit à travers les fins canalicules du protoplasma, ont en effet à vaincre une résistance qui croît avec leur grosseur moléculaire et aussi avec l'état de « gonflement » du milieu à traverser. En effet, les phénomènes d'adsorption intervenant concurremment, la perméabilité peut se trouver modifiée et l'osmose complètement arrêtée par un état de « gonflement » des particules protoplasmiques susceptible d'obturer plus ou moins le trajet de ces canalicules.

La constante de « frottement » intervient aussi lors de la pénétration à travers les pores de la couche limitante et à l'intérieur de la cellule. La formation d'une couche pariétale dans ces trabécules par la solution en voie de pénétration peut influencer la vitesse de diosmose en modifiant ces constantes de frottement (comme cela se passe pour les gels) (J. Traube et Whang Siar Hong, 536).

Influence des charges électriques. — Avec les électrolytes, la différence entre les charges électriques des ions et celle de la membrane joue aussi un rôle. Ainsi d'après Michaelis la diffusion des ions présentant une charge de même signe que la paroi est empêchée. D'autre part les substances tensio-actives abaissent la différence de potentiel proportionnellement à leur activité, de telle sorte qu'il peut en résulter une perturbation de la charge électrique des colloïdes.

Troisième temps : ACTION DU DÉSINFECTANT SUR LES CONSTITUANTS DE LA CELLULE.

Ayant pénétré dans l'intérieur de la cellule, le produit désinfectant va y produire de profondes modifications.

La possibilité d'adsorption de la substance par la couche limitante ou par les constituants cellulaires peut déjà porter une atteinte plus ou moins grave à l'organisme en cause, dont les fonctions risquent de se trouver plus ou moins gravement modifiées de ce fait.

La pénétration plus profonde dans l'intimité de la cellule va maintenant provoquer des désordres beaucoup plus sérieux, conséquence de phénomènes d'affinités physico-chimiques entre les agents utilisés et les constituants du corps des bactéries (Walther Schrauth, 505). Loewe (401), en 1893, a essayé de rattacher l'action germicide du phénol à sa capacité de réaction avec les groupements aldéhydes des constituants du protoplasma, mais cette hypothèse ne peut jouer dans tous les cas.

Le plus souvent l'action du produit désinfectant se traduira par la floculation ou la coagulation des matières albuminoïdes, ainsi qu'il ressort des travaux de R. Labes et E. Jansen (368) sur divers dérivés substitués de l'acide acétique et des phénols, de R. Labes et Th. Schuster (369), d'une part, et J. Schuller (508), d'autre part, expérimentant par des méthodes différentes sur les acides benzoïques substitués.

Ces auteurs sont arrivés à classer les différents substituants considérés dans l'ordre suivant :

phényle>iode>brome>chlore>nitro>méthyle>hydroxyle

qui vaut aussi bien pour l'activité colloïdochimique que pour l'intensité de l'action désinfectante.

Le pouvoir désinfectant va donc de pair avec la propriété de flocculer les protéines (Eichholz, 250).

Pour A. E. Cooper (221), A. E. Cooper et J. Masson (223), A. E. Cooper et E. Sanders (224), il y aurait dissolution de l'agent désinfectant dans les protéines des bactéries ou adsorption sur la surface des particules protoplasmiques, puis l'action dénaturante spécifique de cette substance provoquerait la précipitation de leur solution colloïdale.

Pour J. Schumacher (510) les lipides et lipoprotéides de la cellule fixent électivement les substances antiseptiques avec formation d'une sorte de sel.

Indépendamment des protéines les autres constituants de la cellule subissent également des modifications du fait du désinfectant.

En même temps, par suite de toutes ces atteintes, les processus fermentaires, indispensables à la vie de la cellule, se trouvent inhibés plus ou moins rapidement.

On conçoit facilement que de telles perturbations puissent aboutir finalement à l'arrêt complet des fonctions vitales.

Toutes ces actions peuvent d'ailleurs n'être que passagères. Si, par exemple, un lavage suffit à éloigner la substance toxique et que les modifications subies par le protoplasma soient susceptibles de réversibilité, la bactérie peut alors revenir à des fonctions normales. Dans le cas contraire, l'éloignement de la substance toxique ne suffit plus à supprimer le dommage causé et la cellule meurt. C'est ce qui se produit pour les substances chimiques à action désinfectante rapide.

En terminant, relatons encore l'opinion de K. Schubert et K. Richter (50). Ces auteurs ont donné de l'action bactéricide

une explication en corrélation avec les travaux de Ch. Moureu et Ch. Dufraisse (424). Les corps phénoliques ayant la propriété d'empêcher l'autoxydation des corps organiques, Ch. Moureu et Ch. Dufraisse émettent l'idée que la forte action biologique des composés phénoliques reposerait sur une diminution de l'absorption de l'oxygène par l'organisme vivant et que le pouvoir antiseptique proviendrait d'un empêchement des processus d'oxydation. Partis de cette hypothèse, K. Schubert et K. Richter concluent de leurs expériences que les composés phénoliques agissent sur les bactéries non seulement en privant d'oxygène le milieu de culture, mais encore par un enlèvement direct d'oxygène au corps même des bactéries, causant par là de graves perturbations dans les processus vitaux de celles-ci.

CONCLUSION

En résumé, nous voyons que l'action des désinfectants sur les microorganismes est fort complexe. Elle met en jeu toute une série de processus physico-chimiques, qui jouent simultanément et retentissent les uns sur les autres. La mort des microorganismes, but de la désinfection, est le résultat de tous ces processus que nous ne connaissons encore que bien imparfaitement. Il est donc impossible de rapporter l'action antibactérienne à tel ou tel facteur considéré séparément.

Nous n'avons d'ailleurs envisagé dans ce court exposé que le côté désinfectant. Il nous faut aussi ne pas perdre de vue le côté microbe.

Nous verrons dans les chapitres suivants que l'action d'un même désinfectant est loin d'être uniforme vis-à-vis des diverses espèces microbiennes. C'est ainsi, par exemple, que le staphylocoque (Gram+) est moins résistant vis-à-vis des acides que *Bacterium coli* (Gram—), tandis que l'on observe l'inverse vis-à-vis des bases (Traube et Somogyi, 534). (Cette

distinction entre espèces positives ou négatives à la réaction de Gram n'a pas d'ailleurs un caractère général, ainsi que le montrent les expériences de E. Klarmann, L. W. Gatyas et V. A. Shternow (337, 338, 339) sur les monoéthers de diphénols).

Une modification apportée à la constitution d'un corps pourra donc abaisser son action nocive vis-à-vis de tel organisme et la renforcer vis-à-vis de tel autre. Telle substance pourra exercer une action spécifique sur un microbe déterminé. Pour ne citer qu'un exemple, G. Mazetti (413) a trouvé que les o- et p-nitrophénols ont une action sensiblement égale sur le bacille typhique, tandis que la combinaison ortho montre une spécificité certaine pour le staphylocoque.

La sensibilité des microbes à l'action des désinfectants est donc variable avec l'organisation cellulaire de chaque espèce.

PLAN DE LA DEUXIEME PARTIE

Nous venons de suivre, très brièvement exposé, le processus de l'action des substances antiseptiques sur les micro-organismes. Nous avons vu que cette action est la résultante d'un ensemble de phénomènes physico-chimiques à rapporter à la substance et à son solvant sans négliger l'influence de la structure particulière de chaque espèce microbienne. C'est donc en influant sur l'ensemble des propriétés physico-chimiques des corps, que les variations de leur configuration moléculaire auront pour conséquence des variations de leur pouvoir désinfectant.

En faisant varier la nature et l'emplacement des éléments ou des groupements substituants dans des séries de corps présentant une structure moléculaire semblable, on fera varier en même temps les propriétés physico-chimiques de ces corps et des solutions qu'ils peuvent servir à préparer. Par exemple l'introduction d'un groupement CO^2H ou d'un élément halogène donnera à la molécule un caractère plus spécialement électronégatif. L'adjonction d'une fonction alcool diminuera la tension superficielle. De telles modifications des propriétés physico-chimiques auront évidemment leur répercussion sur les propriétés biologiques. Il y a donc un grand intérêt théorique et pratique à étudier des séries complètes de corps chimiques.

Nous avons porté nos recherches sur les dérivés halogénés de la série salicylique. Comme nous le verrons plus loin, la plupart de ces corps étant très peu solubles dans l'eau, nous avons dû les solubiliser au moyen de la soude. Dans ces conditions, il nous a fallu nous borner à ne considérer que la constitution chimique de ces corps. Aussi pour pouvoir tirer autant que possible de nos résultats des conclusions

générales en les comparant aux faits acquis concernant les désinfectants phénoliques, nous allons exposer d'abord l'état de nos connaissances sur les relations entre les propriétés antiseptiques de ces corps et leur constitution chimique, en conservant comme point de départ le phénol, — restant entendu, comme nous venons de l'exposer, que c'est par la variation concomitante des propriétés physiques que l'action antiseptique peut se trouver modifiée. Cet exposé fera l'objet du *premier chapitre*.

Dans le *deuxième chapitre*, nous décrirons les méthodes permettant de déterminer le pouvoir antimicrobien des substances chimiques et nous indiquerons les raisons qui nous ont guidé dans le choix des méthodes que nous avons adoptées.

Enfin, dans le *troisième chapitre*, nous exposerons et discuterons nos résultats personnels.

Certains de ces résultats présentant un intérêt particulier seront développés dans la troisième partie.

CHAPITRE PREMIER

NOTIONS GENERALES CONCERNANT L'INFLUENCE DE LA CONSTITUTION CHIMIQUE SUR LE POUVOIR DESINFECTANT DES SUBSTANCES PHENOLIQUES

Dans ce premier chapitre, nous allons passer en revue les principaux travaux ayant trait au pouvoir antimicrobien des corps phénoliques et à ses variations sous l'influence de diverses modifications introduites dans la configuration moléculaire de ces substances.

Au point de vue de la structure de la molécule, tous les corps que nous avons examinés dérivent du noyau benzénique, dont différents atomes d'hydrogène se trouvent remplacés : 1° par un groupement OH ; 2° soit par un groupement CO²H (libre, salifié ou estérifié), soit par un groupement CHO, soit par un groupement CH²OH ; 3° par un ou deux atomes d'un élément halogène (chlore, brome, iode).

Pour la clarté de cet exposé, nous partirons donc du benzène et nous verrons comment les différentes substitutions indiquées ci-dessus peuvent modifier le pouvoir microbicide, en commençant par les dérivés non halogénés.

I. — DERIVES NON HALOGENES

A. — Benzène : C⁶H⁶

Le benzène est à peu près complètement dépourvu d'action sur les microorganismes. A. Chassevant (208) a montré qu'il

peut, par sa présence, exercer une action antigénétique momentanée, mais qu'il est incapable de toute action antibiotique. Fusao Ishiwara (318), A. Morel, A. Rochaix et Y. Dumas (247, 420) lui dénie également tout pouvoir désinfectant.

HOMOLOGUES DU BENZÈNE

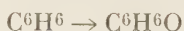
Les homologues du benzène se comportent de même. Ils possèdent seulement des propriétés antigénétiques, mais aucune propriété désinfectante. Par exemple les propriétés antigénétiques du toluène ($C^6H^5-CH^3$) sont fréquemment utilisées dans les laboratoires pour conserver divers liquides altérables. Le xylène ($C^6H^4(CH^3)^2$) (A. Chassevant), le cymène $C^6H^4(CH^3)_1[CH(CH^3)^2]_1$ (Th. Bokorny, 188), le pentaméthyl et l'hexaméthylbenzène (F. Ishiwara) agissent de la même façon ; leur action antigénétique cesse avec leur éloignement du milieu et on ne constate aucun effet antibiotique. Annie Matthews (412) observa de son côté, en traitant le sol par différents antiseptiques, dont le benzène et le xylène, que le nombre des bactéries diminue rapidement le premier jour pour augmenter à nouveau ensuite après la disparition de ces substances.

Retenons de tout ceci que les carbures benzéniques n'ont pas de propriétés antibiotiques. Ce ne sont pas des désinfectants. Leur présence dans un milieu donné est tout au plus capable d'entraver le développement des microorganismes dans ce milieu.

Il est à remarquer, contrairement à ce que nous verrons plus loin, qu'une ou plusieurs substitutions alkylées ne confèrent au benzène aucune augmentation du pouvoir antimicrobien. L'introduction d'un CH^3 dans le benzène diminuerait même l'action vis-à-vis des microorganismes (A. Matthews).

B. — Phénol : C^6H^5-OH

La substitution d'un atome d'hydrogène du noyau benzénique par un oxhydrile OH conduit au phénol, qui, lui, possède des propriétés désinfectantes. Ainsi l'introduction d'un atome d'oxygène dans la formule du benzène :



a suffi pour modifier de façon appréciable l'action sur les microorganismes.

Le pouvoir désinfectant du phénol est relativement faible comparé à celui d'autres corps tels que le sublimé ou le formol. Behring (175) estime l'action du phénol 100 fois plus faible que celle du sublimé. Toutefois par sa grande liposolubilité, le phénol, comme les autres corps phénoliques, pénètre rapidement dans la cellule microbienne et, même lorsque les conditions pour l'action antibiotique ne sont pas entièrement réalisées, il n'en exerce pas moins une action antigénétique élevée en ralentissant les fonctions vitales de la cellule bactérienne.

Les auteurs se sont surtout attachés, comme il est logique, à déterminer l'action antibiotique du phénol. On ne trouve que peu de données concernant son action antigénétique. Celle-ci semble d'ailleurs avoir été souvent confondue avec l'action antibiotique ou avoir contribué à en fausser la détermination dans de nombreuses expériences.

ACTION ANTIGÉNÉTIQUE. — R. Koch (d'après Th. Bokorny, 188) donne la dose de $1/2525$, soit 0,39 p. 1000, pour l'empêchement des divers germes de l'air ; $1/669$, soit 1,49 p. 1000, pour l'empêchement des bactéries du charbon. Hoppe-Seyler (d'après Th. Bokorny) empêche la fermentation butyrique avec 0,33 p. 100, la fermentation lactique avec 0,37 p. 100, la putréfaction de la viande avec 0,50 p. 100, celle de l'urine

avec 1 p. 100. H. Bechold et E. Ehrlich (171) trouvent 1/800, soit 0,125 p. 100, comme dose antigénétique vis-à-vis du bacille de la diphtérie.

S. Lambin (370), qui a, comme nous le verrons plus loin, établi des méthodes d'essai des antiseptiques tout à fait rigoureuses, a trouvé pour le phénol une dose antigénétique de 2 g., 60 p. 1000 vis-à-vis du staphylocoque doré.

D'après ces quelques chiffres, il est net que les doses de phénol inférieures à 1 p. 100 suffisent pour exercer une action antigénétique envers la généralité des microbes connus.

ACTION ANTIBIOTIQUE. — Les données concernant le pouvoir antibiotique du phénol sont beaucoup plus nombreuses, mais aussi plus contradictoires. Il y a lieu de distinguer d'abord celles qui se rapportent aux formes végétatives et celles qui ont trait à des formes sporulées.

Formes végétatives. — Pour les formes végétatives, le phénol manifeste des propriétés désinfectantes efficaces.

En solution à 0,50 p. 100, il détruirait les bacilles du charbon, du choléra, de la fièvre typhoïde, de la diphtérie et le streptocoque en quelques heures (Behring, 175). A une concentration plus élevée, l'action est évidemment plus rapide. En solution à 1 p. 100, il détruit le staphylocoque en 20 à 25 minutes (Schneider, d'après H. K. Laubenheimer, 377), le choléra en 40 minutes (Schneider) et en 2 minutes (R. Koch, d'après Th. Bokorny), les bacilles typhiques et pesteux en 80 à 90 minutes (H. K. Laubenheimer, 376), ainsi que les staphylocoques desséchés sur grenats.

A une concentration de 1,25 p. 100, il détruirait le staphylocoque en 10 minutes et à 1,50 p. 100 en 5 minutes, ainsi que le bacille du choléra (Schneider). Par contre F. Ishiwara donne 30 minutes avec cette même concentration de 1,5 p. 100 pour le staphylocoque, le streptocoque, le bacille typhique et le gonocoque. E. Hailer (d'après M. Tiffeneau, 524) estime qu'il tue le bacille tuberculeux en 30 minutes toujours à la concentration de 1,5 p. 100.

S. Lambin, pour un temps de contact de 15 minutes, a trouvé les doses antibiotiques suivantes :

Staphylocoque doré . . .	10 g., 30 p.	1000
Bacille diphtérique	7 g.	p. 1000
Colibacille	17 g.	p. 1000

Quelques essais personnels nous ont fourni la même valeur pour le staphylocoque.

De toutes ces données, dont les contradictions tiennent évidemment à la diversité des conditions expérimentales réalisées par les différents auteurs, on peut conclure d'une manière générale qu'à des concentrations de 1 à 3 p. 100 le phénol est capable de détruire rapidement les formes végétatives de toutes les espèces de microbes.

Formes sporulées. — Les formes sporulées sont par contre beaucoup plus difficiles à annihiler que les formes végétatives. Les résultats des auteurs sont à ce sujet très divergents. Tizzoni et Cattoni (d'après Th. Bokorny) ne sont pas parvenus à tuer les spores tétaniques en 24 heures avec une solution à 5 p. 100 ; les spores de charbon desséchées sur grenats résistent également dans les mêmes conditions (H. K. Laubenheimer) ; celles-ci ne sont pas tuées en 7 jours (Scheurlen, d'après M. Tiffeneau, 524), ni même en 40 jours (Esmarch, d'après Th. Bokorny). Pour R. Koch au contraire les spores de charbon seraient tuées en 4 jours par une solution à 4-5 p. 100. Schneider arrive au même résultat. S. Lambin n'est pas parvenue à détruire les spores de *Bacillus subtilis* en 15 minutes de contact même avec 15 g. de phénol p. 1000 (limite de concentration dans les conditions de l'expérience).

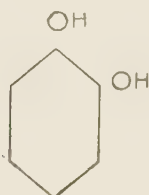
Si l'on tient compte du fait que le pouvoir antigénétique élevé du phénol a dû fausser un grand nombre de ces expériences, on voit qu'il ne faut pas compter sur le phénol pour détruire à coup sûr les formes sporulées, même en employant de fortes concentrations et en laissant en contact pendant un temps prolongé. Il peut seulement par sa présence les empêcher de germer.

Quoi qu'il en soit de ce cas particulier des espèces sporulées, l'introduction d'un OH dans le noyau du benzène n'en a pas moins augmenté le pouvoir antimicrobien, en même temps d'ailleurs que la toxicité (Chassevant et Garnier, 209).

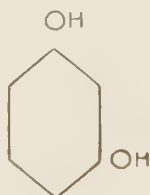
Voyons maintenant si l'introduction d'un deuxième et d'un troisième oxydyle phénolique dans le noyau du phénol va exercer une influence semblable sur le pouvoir désinfectant.

C. — Polyphénols

La substitution d'un atome d'hydrogène dans le noyau du phénol par un deuxième oxhydryle donne naissance à l'un des trois diphénoles : pyrocatechinol, résorcinol, hydroquinone.



PYROCATECHINOL

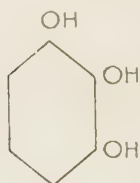


RÉSORCINOL

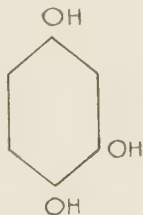


HYDROQUINONE

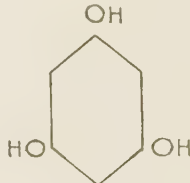
Une troisième substitution oxhydrylée conduit aux trois diphénoles : pyrogallol, oxyhydroquinone, phloroglucinol.



PYROGALLOL



OXYHYDROQUINONE



PHLOROGLUCINOL

Les corps ainsi obtenus ne présentent aucune supériorité sur le phénol. Au contraire le pouvoir antimicrobien se trouve diminué légèrement chez les diphénols et notablement chez les triphénols.

Ces faits sont établis par les travaux de Talhimer et Palmer (523), Yabe (575), Lübbert (403), Th. Carnelley, Sc. Aberdeen et W. Frew (203), E. Loeffler (402) et E. Hailer (298) pour les propriétés antigénétiques et antibiotiques vis-à-vis des bactéries ; H. Euler et B. Euler (268) pour l'action sur la levure ; H. Watermann (560), J. Boeseken et H. Watermann (184, 185) pour l'action sur le *Penicillium glaucum*. Seul O. Schoebl (504) a prétendu que le pouvoir antigénétique vis-à-vis des bacilles acido-résistants augmente avec le nombre des oxyhydryles, mais il ne paraît pas que son assertion soit à retenir.

Th. Sabalitschka et H. Tietz (491), confirmant les travaux ci-dessus, indiquent les degrés d'action suivants pour l'empêchement de la fermentation alcoolique du glucose (phénol = 1) :

Pyrocatéchinol 0,8 ; Résorcinol 0,9 ; Hydroquinone 0,8 ;

Phloroglucinol 0,1 ; Pyrogallol 0,6 ; Oxyhydroquinone 0,1.

(Th. Sabalitschka nomme degré d'action le rapport de la concentration antigénétique ou antibiotique minima d'une substance à la concentration antigénétique ou antibiotique minima du phénol déterminée dans les mêmes conditions.)

Pour Th. Sabalitschka et H. Tietz, comme on le voit ci-dessus, le résorcinol serait le plus actif des trois diphénols, le pyrocatéchinol et l'hydroquinone étant sensiblement équivalents.

F. Ishiwara donne les concentrations antibiotiques suivantes avec une durée du contact désinfectant-germes de 30 minutes :

	B. typhique Staphylocoque Streptocoque	Gonocoque
Pyrocatéchinol	2 p. 100	1 p. 100
Résorcinol	10 p. 100	4 p. 100
Hydroquinone.	0,2 p. 100	0,1 p. 100

Ici les diphénols se classent dans l'ordre :

hydroquinone > pyrocatechinol > résorcinol.

Pour E. Klarmann, V. A. Shternow et L. W. Gates (337, 338, 339) le résorcinol serait également le moins actif des trois diphénols.

Citons encore quelques données. Bokorny (188) empêche le développement des bactéries avec 0,05 p. 100 de résorcinol, doses insuffisantes d'ailleurs pour empêcher les moisissures. L'hydroquinone s'oppose également à la végétation des bactéries à la concentration de 0,05 p. 100, mais il en faut 0,50 p. 100 pour la levure et les moisissures ne sont pas encore influencées avec cette dose.

Riegner (d'après Houben, 316) doit employer au moins 1 p. 100 de résorcinol pour arrêter la fermentation du contenu intestinal.

Engelmann (d'après Houben, 316) désinfectait des fibres de soie imprégnées de bacilles diphtériques avec une solution de résorcinol à 10 p. 100.

Une solution d'hydroquinone à 5 p. 100 assure la stérilité vis-à-vis du bacille diphtérique. Une solution à 5,85 p. 100 tuerait les cultures de ce microbe en 20 secondes (F. Loeffler, 402).

Nous retiendrons de ces données que *l'introduction d'un deuxième, puis d'un troisième groupement oxhydryle loin de renforcer le pouvoir antimicrobien du phénol, l'affaiblit au contraire.*

Nous n'avons envisagé jusqu'à présent que des molécules phénoliques ne comportant que des substitutions oxhydrylées. Passons aux homologues des corps étudiés provenant de l'introduction, dans ces molécules, de radicaux alkyles.

D. — Alkylphénols

A la différence de ce qui se passe pour le benzène, l'introduction de radicaux alkyles dans le noyau du phénol ou de ses homologues a une influence très marquée sur le pouvoir bactéricide, qui est toujours augmenté, au moins jusqu'à une certaine limite de grandeur de la chaîne latérale.

Ainsi le pouvoir désinfectant des crésols est au moins trois fois supérieur à celui du phénol (Hammerl, 301 ; H. Emde, 254).

INFLUENCE DE LA LONGUEUR DE LA CHAÎNE ALKYLÉE

Le pouvoir bactéricide augmente avec la longueur de la chaîne alkylée, c'est-à-dire avec le poids moléculaire, comme cela se passe également pour les alcools homologues de la série aliphatique (J. M. Schaeffer et F. W. Tilley, 497 ; Stadler, 517 ; Woodward, J. Glenn, Lyle B. Kingery et J. W. Roger, 571).

Fusao Ishiwara relate lui aussi que la substitution d'un alkyle augmente l'action du phénol de 3 à 10 fois et que le groupement éthyle agit dans ce sens deux fois plus que le groupement méthyle. Ce renforcement au double à chaque nouvelle augmentation d'une unité dans le nombre des atomes de carbone de la chaîne latérale se poursuit, selon cet auteur, jusqu'au groupement butyle.

Ces faits sont confirmés par L. F. Rettger, W. N. Plastridge et G. Valley (456, 457) dans leur travail sur les n-butylphénols.

C. E. Coulthard (226), C. E. Coulthard, J. Marshall et F. L. Pyman (227) ont de leur côté établi, par la méthode de Rideal et Walker, que dans la série des para-n-alkylphénols $C^6H_4(OH)_1(R)_3$, le coefficient phénol augmente avec le nombre

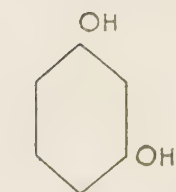
d'atomes de carbone dans la chaîne latérale jusqu'au dérivé n-pentylé pour redescendre ensuite.

Cette règle paraît si générale qu'elle se vérifie également dans la série des diphénols et dans celle des triphénols. Citons rapidement quelques exemples.

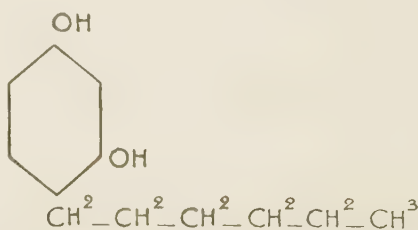
L'alkylation du noyau des diphénols ou de leurs éthers provoque de notables augmentations du pouvoir bactéricide, qui dépendent là encore de la grandeur de l'alkyle (Th. Sabalitschka et H. Tietz, 491).

Parmi les 4-n-alkylgaïacols $(C^6H^4(OCH^3)_1(OH)_2(R)_4$ les plus actifs sont les n-butyl- et les n-amylgaïacols ; après le dérivé n-pentylé, la valeur diminue à nouveau (C. E. Coulthard, J. Marshall et F. L. Pyman, 227).

Dohme, Cox et Miller (244), Johnson et Lane (325), Veader Leonard (385, 386), V. Leonard et Wood Austin (389), J. B. Brown et H. L. Wikoff (194), D. C. Elliott et H. G. Barbour (253), J. Houben et H. W. Wollenber (317), L. F. Rettger, G. Vallet et W. N. Plastridge (456, 457), Herbert L. Rateliff (449) firent des constatations semblables dans la série des alkylrésorcinols. Si l'on pose l'action du résorcinol = 1, celle de l'éthylrésorcinol sera de 4,9 ; celle du n-propylrésorcinol de 13,8, celle du n-butylrésorcinol de 23,6 et celle du n-hexylrésorcinol de 50. Selon Bettylee Hampil (303) cette progression continuerait encore jusqu'au dérivé octylé.

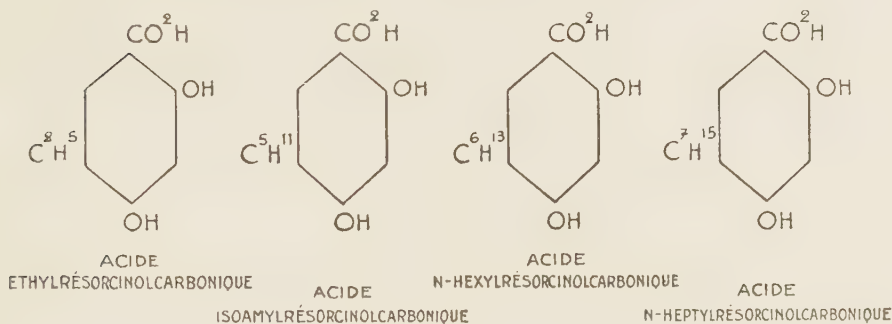


RÉSORCINOL

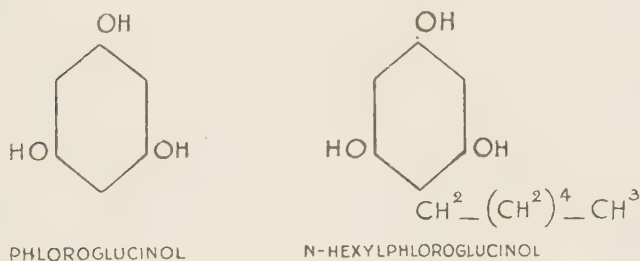


N-HEXYLRÉSORCINOL

De même dans la série des acides alkylrésorcinolcarboniques, la capacité bactéricide augmente jusqu'au groupement n-hexyl- ou n-heptyl- (L. Bleyer, 180).



L'élévation de la puissance germicide par l'introduction de radicaux alkyles se retrouve, quoiqu'à un moindre degré, dans la série du phloroglucinol. Tandis que celui-ci est à peu près inactif, l'hexylphloroglucinol a un coefficient phénol voisin de 8 (Emil Klarmann et William Figdor, 333). (Pour la définition du coefficient phénol, cf. chapitre II, p. 148).



Il est à noter que, tandis que le pouvoir bactéricide augmente avec le poids moléculaire des groupements alkyles, la toxicité vis-à-vis des organismes supérieurs diminue au contraire, les groupements méthyle et éthyle se montrant en effet plus toxiques que les groupements propyle et suivants (Chassevant et Garnier, 209).

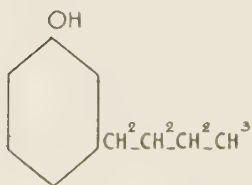
INFLUENCE DE LA STRUCTURE DE LA CHAÎNE ALKYLÉE

Nous n'avons envisagé jusqu'à présent que le cas de chaînes droites. Voyons brièvement comment se comportent les chaînes ramifiées.

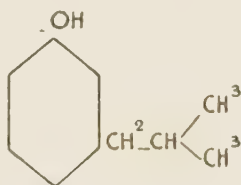
D'une manière générale, on peut dire que, comme pour les alcools de la série aliphatique, les chaînes normales ont une action plus accentuée que les chaînes ramifiées.

Ainsi le para-n-propylphénol agit plus fortement que le para-isopropylphénol. Il en est de même pour les propylcrésols (d'après Fränkel, 273).

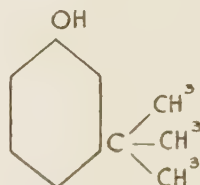
Dans la série des m-butylphénols, le groupement butyle peut être primaire, secondaire ou tertiaire : l'intensité de l'action antibactérienne décroît du primaire au tertiaire (R. R. Read et Miller Ellis, 450), de même d'ailleurs que, dans la série aliphatique, l'alcool butylique normal est supérieur au triméthylcarbinol (T. Morgan et E. A. Cooper, 423).



M-BUTYLPHÉNOL
(PRIMAIRE)

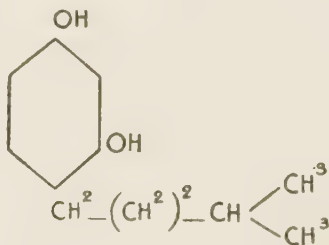


M-BUTYLPHÉNOL
(SECONDAIRE)



M-BUTYLPHÉNOL
(TERTIAIRE)

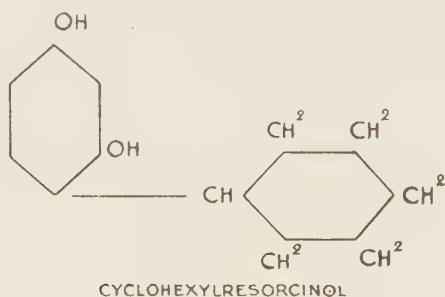
L'isohexylrésorcinol est moins actif que le n-hexylrésorcinol (coefficient phénol : 27 pour le premier, 46 à 56 pour le second).



ISOHEXYLRÉSORCINOL

Dans la série des phénols propénylés, les dérivés allylés $R-CH^2-CH=CH^2$ sont plus actifs que les dérivés isoallylés $R-CH=CH-CH^3$ (A. Morel, A. Rochaix et L. Perrot, 421 ; L. Perrot, 440).

La cyclisation de la chaîne latérale semble aussi diminuer le pouvoir antimicrobien par rapport au dérivé normal. Ainsi le cyclohexylrésorcinol a un coefficient phénol de 24 à 27 (J. F. Bartlett et C. E. Garland, 164), ce qui indique une action presque moitié de celle du n-hexylrésorcinol.



INFLUENCE DU NOMBRE DES SUBSTITUTIONS ALKYLÉES

La substitution d'un nouvel atome d'hydrogène du noyau par un deuxième groupement alkylé vient encore renforcer l'action désinfectante du phénol.

Les n-alkylcrésols sont plus puissants que les n-alkylphénols correspondants (C. E. Coulthard, J. Marshall et F. L. Pyman) et la valeur de leur coefficient phénol augmente là aussi jusqu'à la chaîne n-pentylée pour s'abaisser à nouveau ensuite. Le 4-n-amyl-m-crésol $C^6H^3(CH^3)_1(OH)_3(C^5H^{11})_4$ s'est montré le plus puissant avec un coefficient de 200 à 300.

Th. Sabalitschka (473) donne les degrés d'action suivants pour l'inhibition de la fermentation alcoolique : phénol : 1 ; p-crésol : 1,5 ; xylénol 1-3-4 : 5,9.

Par ailleurs le coefficient phénol des combinaisons di-substituées est en général plus grand que celui des combinaisons monosubstituées comportant une chaîne unique de

longueur double. Le dihexylrésorcinol $C^6H^2(OH)^2(C^6H^{13})^2$, par exemple, possède un coefficient phénol égal à 21, tandis que le dodécylrésorcinol $C^6H^2(OH)^2(C^{12}H^{25})^2$, est pratiquement inactif. Dans d'autres cas par contre ce sont les combinaisons disubstituées qui se montrent les moins actives (E. Klarmann, 332).

INFLUENCE DE L'ISOMÉRIE DE POSITION

Le place occupée dans le noyau phénolique par le groupement substituant relativement à l'oxhydryle a sa répercussion sur l'intensité de l'action antimicrobienne, mais il n'apparaît pas qu'il existe ici une règle nette susceptible de généralisation.

Si, par exemple, les auteurs sont unanimes à reconnaître la supériorité des crésols sur le phénol, il n'en est plus de même lorsqu'il s'agit de déterminer quel est le plus actif des trois.

La plupart d'entre eux considèrent cependant le métacrésol comme venant en premier et estiment que l'activité décroît dans l'ordre méta>para>ortho (H. Schneider, 501, 502, 503 ; A. J. Steenhauer, 518 ; E. Hailer, 292, 293, 294, 295,...).

Par contre P. Uhlenhuth et E. Remy (539) attribuent à l'orthocrésol la plus grande efficacité pour la désinfection des crachats de tuberculeux.

D'autre part selon Rapp (446), l'orthocrésol serait au moins égal au para pour l'action bactéricide et peu inférieur au méta. Pour Hammerl (300, 301), le para est un peu inférieur à l'ortho.

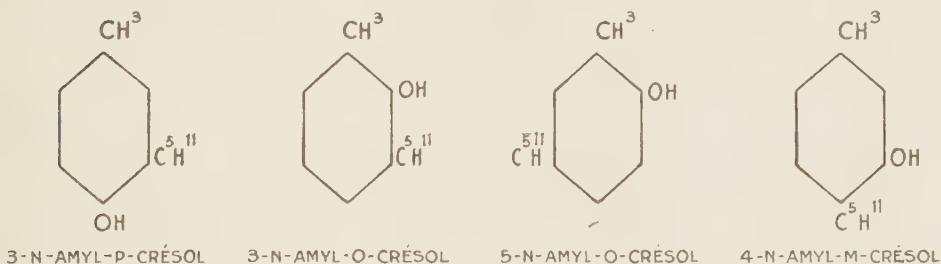
R. Kanao (326) de son côté tient l'ortho et le métacrésol comme ayant vis-à-vis du staphylocoque la même valeur désinfectante ; le paracrésol serait un peu plus faible, mais la différence sans importance pratique.

R. R. Read et Miller Ellis (450) attribuent aux trois crésols et aux trois n-butylphénols un même coefficient phénol égal à 2,2 pour les premiers et à 32 pour les seconds.

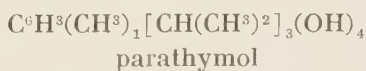
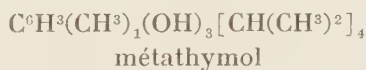
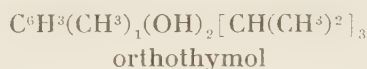
La grandeur de l'action des propylcrésols décroît du meta au para, puis à l'ortho ; il en est de même pour les dérivés iso, plus faibles que les propylcrésols normaux.

L'isobutyl-ortho-crésol 1-2-4 agit plus fortement que l'isomère méta ; la combinaison para se tient entre les deux (d'après Fränkel, 273).

Le 3-n-amil-p-crésol et le 3-n-amil-o-crésol ont le même coefficient phénol (=250) ; comparativement les deux isomères voisins, 5-n-amil-o-crésol et 4-n-amil-m-crésol ont respectivement un coefficient égal à 300 pour le premier et à 280 pour le second (C. E. Coulthard, J. Marshall et F. L. Pyman).



Guillaumin (290) a préparé synthétiquement l'ortho- et le parathymol et il a trouvé que la valeur bactéricide du parathymol vis-à-vis du bacille d'Eberth est la même que celle du thymol naturel (méta), tandis que le dérivé ortho- est moins actif.



On voit, d'après ces quelques exemples, qu'il n'est guère possible de dégager une loi générale quant à l'influence de l'isomérisie de position sur les propriétés antimicrobiennes des alkylphénols.

E. — Ethers phénoliques

L'éthérification de l'oxyhydre phénolique par un radical alkyle ne semble pas augmenter le pouvoir antiseptique du phénol, Loeffler (402) dit simplement que les bacilles diphtériques sont tués par les vapeurs d'anisol $C^6H^5-OCH^3$ ou de phénéthol $C^6H^5-OC^2H^5$, mais un contact de 20 secondes avec ces produits liquides n'amoindrit pas leur capacité de développement.

Les éthers de diphénoles ont été mieux étudiés, mais les résultats publiés par les auteurs sont quelque peu divergents.

Em. Klarmann, L. W. Gatyas et V. A. Shternow (337, 338, 339) ont expérimenté les éthers des phénols divalents sur le bacille typhique et le staphylocoque.

Alors que, des trois diphénoles, le résorcinol est, d'après eux, le moins actif, ce sont au contraire les monoéthers du résorcinol $C^6H^4(OH)_1(OR)_3$ qui sont les plus bactéricides.

L'action des monoéthers du résorcinol, vis-à-vis du bacille typhique, augmente avec la longueur de la chaîne alkylée jusqu'au groupement hexyle pour redescendre ensuite.

Pour les monoéthers de l'hydroquinone $C^6H^4(OH)_1(OR)_4$ l'action monte jusqu'à l'amyle pour le bacille typhique et plus loin que l'octyle pour le staphylocoque.

Avec les monoéthers du pyrocatechinol $C^6H^4(OH)_1(OR)_2$ on observe une progression semblable jusqu'au groupe amyle pour le premier microbe et jusqu'au groupe heptyle pour le second.

Ces faits ont été confirmés en ce qui concerne les éthers de l'hydroquinone par R. R. Read et Miller Ellis (450), qui ont trouvé les coefficients phénol suivants :

Ether monopropylique	4,4
Ether monopentylique	40
Ether monohexylique	67

Par contre Th. Sabalitschka et H. Tietz ne reconnaissent aucune différence, pour l'inhibition de la fermentation alcoo-

lique, entre les diphénoles et leurs monoéthers. Par rapport au phénol (=1), les degrés d'action sont les suivants :

Résorcinol	0,9
Pyrocatechinol	0,8
Monométhyléther du résorcinol	1
Gaïacol	0,7

Comme cela se passe pour les alkylphénols, E. Klarmann, L. W. Gatyas et V. A. Shternow attribuent à l'éthérisation par une chaîne alkylée normale une efficacité plus grande qu'à l'éthérisation par une chaîne secondaire.

La cyclisation exerce ici encore une influence affaiblissante. Les éthers cyclohexylés sont moins actifs que les éthers hexylés (et que les éthers phénylés).

Nous venons de suivre les variations de l'action antimicrobienne par l'introduction dans la formule du benzène d'un ou plusieurs oxhydrides, puis par l'introduction dans ces noyaux de radicaux alkylés.

Si maintenant nous remplaçons un atome d'hydrogène dans le benzène par un groupement CO^2H , nous obtenons l'acide benzoïque. La même substitution effectuée sur le phénol donne les trois acides oxybenzoïques, dont le plus important, l'acide orthooxybenzoïque, n'est autre que l'acide salicylique.

F. — Acide benzoïque : $\text{C}^6\text{H}^5\text{-CO}^2\text{H}$

L'introduction d'un groupement CO^2H dans le noyau du benzène, comme aussi dans celui des autres carbures benzéniques, confère à ce noyau de remarquables propriétés antiseptiques (F. Ishiwara). L'acide benzoïque est doué d'une action désinfectante énergique et son pouvoir antigénétique

élevé l'a fait proposer à maintes reprises comme agent de conservation des matières alimentaires ou autres denrées périssables.

Sans entrer dans le détail des très nombreux Mémoires qui traitent de l'acide benzoïque soit comme désinfectant, soit comme agent de conservation, nous nous bornerons seulement à en citer quelques-uns, qui nous permettront de juger sa valeur antimicrobienne. Nous traiterons d'abord ce qui a trait à son pouvoir antigénétique, puis nous passerons à son action antibiotique.

ACTION ANTIGÉNÉTIQUE. — Dougall (245), Fleck (269), Meyer et Kolbe (414, 415) semblent avoir été les premiers (1872-1875) à signaler l'action de conservation de l'acide benzoïque.

Fleck indique que des doses de 0,6 à 0,7 p. 1000 produisent déjà une notable action d'empêchement sur la fermentation de moûts de bière par la levure.

Th. Bokorny (188) donne une dose de 1/2867, soit 0,35 p. 1000, pour l'empêchement des germes de l'air et du bacille du charbon.

1/400, soit 2,5 p. 1000, empêcheraient les microbes du pus, d'après Lübbert (403).

Kaufmann (328) trouve des doses plus faibles ; selon lui, 0,04 p. 100 exerceraient une action antigénétique sur les staphylocoques et sur les bacilles diphtériques. Pour Th. Sabalitschka (475), l'action antigénétique de l'acide benzoïque vis-à-vis du staphylocoque serait 1,3 fois plus forte que celle du phénol. C. Wehmer (562) empêche le développement du bacille diphtérique et du vibrion cholérique avec une dose de 1 p. 1000, du bacille du charbon et des microbes du pus avec 0,6 p. 1000. Pour empêcher le développement de divers microbes dans l'infusion du tabac, Buchholtz (198) ajoute une proportion d'acide benzoïque de 0,10 p. 100.

Divers auteurs ont tenté, sans grand succès semble-t-il, la conservation de la viande au moyen de l'acide benzoïque. Behre et Segin (174) seraient parvenus à assurer la conser-

vation du jus de viande pendant 8 jours avec 0,8 p. 1000 d'acide benzoïque, Lehmann (380, 381) avec 1 p. 1000, mais la viande hachée ne peut pas être conservée même avec 2 p. 1000. Kickson (329) estime qu'il faudrait au moins, pour atteindre ce résultat, des doses de 5 à 10 p. 1000.

0,5 p. 100 ralentiraient la croissance du *bacillus botulinus* et partant la formation de toxines (G. Biermann, 179).

L'urine, la bière, les sucs de fruits acides peuvent être conservés avec 1 à 2 p. 1000 (Lehmann).

Les doses antigénétiques vis-à-vis des champignons inférieurs sont du même ordre. 0,3 p. 100 sont sans action sur la poussée des moisissures sur agar ou sur gélatine (Hatzfeld). La poussée du *Penicillium glaucum* serait empêchée par 0,05 à 0,10 p. 100 d'acide (pH 4,4 à 4) (Watermann et Kniper, 561), 0,071 p. 100 (Th. Sabalitschka et Dietrich, 487).

E. A. Herter (310) montre que 1 p. 1000 de benzoate de sodium peut conserver des marmelades de fruits, des boissons non alcooliques, mais sans les stériliser réellement. Cette faible dose ne peut d'ailleurs être qu'antigénétique. En accord avec l'auteur précédent, Serger (513) admet que la dose de benzoate de sodium nécessaire pour la conservation des matières alimentaires n'est pas inférieure à 0 g. 05-0,1 p. 100.

Les doses antigénétiques vis-à-vis des champignons inférieurs sont du même ordre. La poussée du *Penicillium glaucum* serait empêchée par 0,05 à 0,10 p. 100 d'acide avec un pH=4,4 à 4 (Watermann et Kniper, 561), 0,071 p. 100 (Th. Sabalitschka, Dietrich et Böhm, 487). Pour Hatzfeld (d'après Lehmann, 381), 0,3 p. 100 d'acide benzoïque sont sans action sur la poussée des moisissures sur agar ou sur gélatine.

Lührig et Sartori (404) trouvent que la fermentation du sucre interverti est complètement empêchée avec 0,3 p. 1000 d'acide benzoïque et celle du glucose par 1,2 p. 1000.

Dans toutes ces expériences, dont les résultats se montrent souvent divergents, il y a lieu de tenir compte des conditions expérimentales réalisées par leurs auteurs. Ainsi des milieux

albumineux ou faiblement alcalins, capables de fixer une partie de l'acide, nécessitent forcément des doses plus élevées. Tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître que le benzoate de sodium est d'une action beaucoup plus faible que l'acide. Celui-ci n'agirait d'ailleurs qu'en fonction du pH. Son action est bien plus efficace dans la zone acide (pH 2,5 à 4,5) qu'aux environs de la neutralité (pH 5 à 8) (W. v. Cruess, P. H. Richert et J. H. Irish, 231, 233 ; W. Liese, 392).

Nous pouvons néanmoins conclure qu'à des doses voisines de 1 p. 1000 l'acide benzoïque *à l'état libre* exerce une action antigénétique sur presque tous les microorganismes. Il est donc nettement supérieur au phénol.

ACTION ANTIBIOTIQUE. — L'action antibiotique de l'acide benzoïque a peut-être été moins étudiée que son action de conservation. Relevons cependant quelques données.

Buchholtz tue des cultures en infusion de tabac avec 0,3 à 0,4 p. 100. Pour Kaufmann, il faut 0,23 p. 100 pour tuer le staphylocoque en 24 heures, 0,14 p. 100 pour tuer le bacille diphtérique en 5 jours. En vapeur son action est plus accentuée.

Une solution demi-saturée (ce qui correspond à 0,15 p. 100) tue le staphylocoque en 1 heure (Traube et Somogyi, 534).

Une dose de 0,2 p. 100 tue les bacilles typhique et paratyphiques A et B, le vibrion cholérique, le bacille de Shiga en 5 minutes, mais ne suffit pas pour tuer le staphylocoque ni le streptocoque en 30 minutes (F. Ishiwara, 318).

Th. Sabalitschka estime la valeur antibiotique de l'acide benzoïque égale à 12 fois celle du phénol.

Comme pour l'action antigénétique, la salification diminue considérablement la puissance antibiotique.

En résumé, l'acide benzoïque *à l'état libre* manifeste son

action antibiotique vis-à-vis de la plupart des espèces microbiennes à des doses comprises entre 2 et 3 p. 1000.

L'introduction d'un groupement CO^2H a donc conféré au noyau benzénique des propriétés antimicrobiennes très marquées ; le groupement CO^2H a apporté ici un renforcement de l'action bactéricide notablement plus élevé que le groupement oxyhydrile (phénol).

G. — Acide salicylique : $\text{C}^6\text{H}^4(\text{CO}^2\text{H})_1(\text{OH})_2$

La propriété que possède l'acide salicylique d'empêcher le développement des microorganismes dans des milieux favorables a été reconnue dès 1874-1875 par H. Kolbe (350 à 353), H. Kolbe et E. von Meyer (414, 415), Schaer (496), Fleck (269), Neubauer (431), Müller (425)...

Il ne saurait être question dans cet exposé de passer en revue tous les travaux parus sur le pouvoir antiseptique de l'acide salicylique ; nous en rappellerons seulement quelques-uns parmi les principaux. Nous les classerons autant que possible en cherchant à distinguer ceux qui ont trait au pouvoir antigénétique et ceux qui ont donné des valeurs antibiotiques, bien que la différence entre ces deux actions n'ait pas toujours été nettement discernée dans les travaux en question. Il y a lieu surtout de distinguer les auteurs qui ont opéré avec l'acide salicylique libre et ceux qui ont opéré avec le salicylate de sodium. En outre il faudra aussi noter les auteurs ayant opéré dans des milieux renfermant des albuminoïdes (bouillon).

ACTION ANTIGÉNÉTIQUE. — En 1874-1875, un certain nombre de Mémoires ont paru concernant les propriétés de l'acide salicylique comme agent de conservation des matières périssables.

H. Kolbe d'une part et Müller d'autre part ont expérimenté la conservation de la bière, du lait, de la viande, de l'urine, de solutions de glucose. Voici leurs principaux résultats :

1° 0 g., 80 d'acide salicylique par litre empêchent l'altération de la bière (Kolbe) ;

2° 0,40 p. 1000 retardent la coagulation du lait pendant 36 heures (Kolbe) ;

3° L'urine ne peut être conservée pendant plus de 6 semaines avec 1 p. 1000 d'acide salicylique ; sa conservation est au contraire assurée avec 10 p. 1000 (Müller) ;

4° De la viande mélangée d'acide salicylique restait une semaine sans se putréfier (Kolbe). Un foie placé dans une solution à 2 p. 1000 d'acide salicylique se couvrait de moisissures en 8 jours et était putréfié après 6 semaines (Müller) ;

5° Les doses inhibitrices de la fermentation alcoolique varient de 0,38-0,50 p. 1000 (Kolbe) à 1 p. 1000 (Müller).

Neubauer effectua de nombreuses expériences concernant la fermentation alcoolique, le développement du *Penicillium glaucum* et du *Mycoderma aceti* en présence d'acide salicylique. Il montra que la quantité d'acide salicylique utilisée doit être en rapport avec le nombre de germes à détruire. C'est ainsi que pour 50 cm³ de moût ensemencé avec une trace de levure, il lui suffisait de 0,022 d'acide par litre pour empêcher la fermentation alcoolique ; à la longue toutefois il s'était développé quelques moisissures. Si au contraire à ces 50 cm³ il ajoutait 1 cm³ de suspension laiteuse de levure (poids sec 0,049), il lui fallait employer 0,096 d'acide salicylique pour empêcher toute fermentation. — 0,056 p. 1000 suffisaient pour empêcher le développement du *Penicillium glaucum*. — Avec le vin, il fallait 0,10 à 0,25 p. 1000, suivant sa qualité, pour le protéger contre le développement du *Mycoderma aceti*.

Buchholtz, se servant comme milieu d'expérience de l'infusion de tabac, trouva que 1,50 p. 1000 d'acide salicylique suffit pour empêcher complètement et sûrement le développement des bactéries dans ce liquide. Déjà avec des doses de 0,5 p. 1000 il n'observa qu'une poussée relativement faible.

E. Samter (495) constate qu'une addition d'acide salicylique à un milieu nutritif dans la proportion de 1 p. 1000

empêche la culture du staphylocoque et du bacille du charbon.

C. Wehmer prescrit aussi cette dose de 1 p. 1000 pour protéger certains milieux pendant environ 8 semaines contre la poussée des levures et des moisissures; toutefois il remarque que cette action dépend beaucoup de la nature du milieu; dans certains cas les doses devaient être doublées. — Contre les microbes du pus, le bacille du charbon, la dose antigénétique fut trouvée égale à 0,6 p. 1000.

A. Behre et Segin conservent le jus de viande pendant 8 jours avec 2,5 p. 1000 d'acide salicylique.

Kickson doit employer 5 à 10 p. 1000 d'acide pour conserver la viande.

Hans Friedenthal (276) donne une dose de 2 p. 1000 pour l'empêchement des bactéries de la putréfaction.

K. B. Lehmann, en collaboration avec Hatzfeld, dut employer 1 à 2 p. 1000 d'acide salicylique pour inhiber les bacilles typhique et cholérique. De l'urine fut conservée exempte de bactéries avec 3 p. 1000 d'acide. La fermentation alcoolique était arrêtée pendant cinq jours par une dose de 1 p. 1000 (et même 0,5 p. 1000). Pour la bière, il fallait aussi 1 à 2 p. 1000. De plus fortes doses de l'ordre de 3 p. 1000 étaient nécessaires pour empêcher le développement du *Penicillium glaucum* sur des milieux nutritifs alcalins.

Christian (213) reconnaît que la modification de la flore bactérienne du lait est seulement qualitative, mais même une dose de 2,5 p. 1000 n'évite pas la reprise lente du développement provoquant finalement l'altération du liquide. Relatons à ce propos l'opinion de Vallin (540); cet auteur pense que l'action de l'acide salicylique est le plus souvent temporaire; bientôt bactéries et ferments s'habituent à ce nouveau milieu et le travail de fermentation reprend avec un retard plus ou moins important.

H. Handa (304) établit pour l'acide salicylique une action fortement antigénétique vis-à-vis du bacille tuberculeux.

D'après Watermann et Kniper, 0,40 à 0,50 p. 1000

d'acide salicylique (Ph. 4,8 à 3,5) empêchent la croissance du *Penicillium glaucum* en solution aqueuse à la température ordinaire.

Th. Sabalitschka (471) a également expérimenté sur le mycelium et les spores du *Penicillium glaucum*. Avec 2,14 p. 1000, il ne se produit pas de culture en 7 jours. — 1 p. 1000 empêche la fermentation par la levure.

F. Robinet et H. Pellet (462) avaient déjà indiqué cette dose de 1 p. 1000 comme suspensive de toute fermentation par la levure, une dose de l'ordre de 0,30 p. 1000 étant déjà capable de provoquer un notable retard.

En résumé, si l'on fait abstraction des divergences expérimentales, la dose antigénétique de l'acide salicylique vis-à-vis de la plupart des microorganismes et champignons inférieurs serait comprise entre 1 et 2 p. 1000.

L'introduction d'un CO²H dans le noyau du phénol a donc augmenté le pouvoir antigénétique. Le degré d'action du phénol étant posé égal à 1, celui de l'acide salicylique serait, d'après Th. Sabalitschka, de 2,2 vis-à-vis du staphylocoque et de 6,7 vis-à-vis de la levure.

L'introduction d'un groupement OH dans le noyau de l'acide benzoïque a une influence moins nette. Si l'on s'en rapporte aux résultats ci-dessus, le pouvoir antigénétique de l'acide salicylique a été trouvé tantôt supérieur, tantôt inférieur à celui de l'acide benzoïque. Rapprochons quelques chiffres. Une même dose de 0,6 p. 1000 d'acides salicylique ou benzoïque exerce une action égale sur les microbes du pus et le bacille du charbon, d'après Wehmer. Il faut 0,8 p. 1000 d'acide benzoïque et 2,8 p. 1000 d'acide salicylique pour la conservation du jus de viande, d'après Behre et Segin. L'acide benzoïque serait supérieur à l'acide salicylique pour Kickson. Pour K. B. Lehman, l'action de ces deux acides serait équivalente; lorsque toutefois une différence peut être observée, elle serait en faveur de l'acide benzoïque. Il

semble bien que cette dernière opinion puisse être acceptée. *L'introduction d'un groupement OH n'augmente donc pas le pouvoir antigénétique de l'acide benzoïque; cette substitution ou bien serait sans effet, ou bien aurait plutôt pour résultat d'abaisser ce pouvoir antigénétique.*

ACTION ANTIBIOTIQUE. — Pour ce qui concerne la valeur antibiotique de l'acide salicylique, les données sont moins nombreuses, un assez petit nombre d'auteurs ayant nettement séparé cette action du processus antigénétique.

H. Kolbe, le premier qui ait attiré l'attention sur ses propriétés antiseptiques, ne lui avait pas reconnu une grande valeur germicide.

Buchholtz, ayant laissé en contact pendant 10 minutes les bactéries d'une infusion de tabac avec 3 à 4 p. 1000 d'acide salicylique, n'obtient pas de subculture positive.

Woronzoff, Winogradoff et Kolesnikoff (572) obtiennent la stérilisation d'une culture de bacille du charbon en bouillon avec 2,5 p. 1000 d'acide salicylique et 48 heures de contact.

Yersin (576) trouve qu'il faut 2,5 p. 1000 pour tuer le bacille tuberculeux en 6 heures (pouvoir antibiotique pris dans l'eau avec lavage des microbes dans l'eau distillée stérilisée pour les débarrasser de toute trace d'antiseptique avant de les introduire dans le milieu de subculture et éliminer ainsi l'action antigénétique, point sur lequel nous aurons l'occasion d'insister dans les chapitres suivants).

Lehman et Hatzfeld estiment que l'acide salicylique n'a pas d'action régulière en 24 heures sur des cultures de bacilles typhique et cholérique en bouillon faiblement alcalin.

Pour Th. Sabalitschka (473), au contraire, le degré d'action de l'acide salicylique, déterminé par la méthode des porte-germes en solution aqueuse vis-à-vis du staphylocoque, serait égal à 16, celui du phénol étant pris pour unité. D'après lui, l'action désinfectante de l'acide salicylique a été sous-estimée dans la littérature, probablement par suite de la diminution provoquée par la présence de matières

albuminoïdes dans les milieux dans lesquels beaucoup d'auteurs ont cherché à l'expérimenter.

Cette manière de voir nous paraît la plus admissible. C'est aussi l'opinion d'Alexander Janke et Ferdinand Béran (320). *L'introduction d'un carboxyle dans le noyau du phénol élève donc notablement l'action désinfectante.*

Th. Sabalitschka et H. Tietz (491) font remarquer que la position du CO^2H en ortho par rapport au groupe OH est particulièrement favorable à l'activité antimicrobienne. La même règle est valable également selon ces auteurs, dans la série des diphénoles. L'introduction d'un CO^2H en ortho dans le pyrocatechinol augmente le degré d'action de 0,8 à 3,8 (soit à peu près 5 fois), tandis que l'introduction en para ne provoque aucune variation. De même dans le résorcinol un groupement carboxyle introduit en ortho par rapport aux hydroxyles élève le degré d'action de 0,9 à 3,8 et en méta l'abaisse à 0,7. Dans l'hydroquinone, où la substitution n'est possible qu'en ortho, le pouvoir antibactérien est élevé dans le même cas, de 0,8 à 1,4.

Influence de la salification de la fonction acide

A l'état de sel alcalin, l'activité de l'acide salicylique est beaucoup diminuée. Le fait a été constaté par de nombreux auteurs.

H. Kolbe dénie au salicylate de sodium tout pouvoir antiseptique. Des quantités de salicylate de sodium correspondant à 10 p. 1000 d'acide salicylique n'empêchaient ni la fermentation de la bière ni celle du lait.

Buchholtz trouve qu'une solution à 4 p. 1000 de salicylate de sodium empêche le développement des bactéries dans l'infusion de tabac. Au contraire, 4,16 p. 1000 de salicylate d'ammonium n'ont aucune action. Une solution à 1/250 de salicylate de sodium équivaldrait pour cet auteur à une solution à 1/666 d'acide libre.

Lehman et Hatzfeld trouvent également que l'action du

salicylate de sodium est plus faible que celle de l'acide libre pour la conservation de l'urine et de la bière. Lorsque le produit à conserver a une réaction acide, sucs de fruits acides par exemple, le sel de sodium agit naturellement comme une quantité équivalente d'acide salicylique libre.

Rochaix et Pinet (464) donnent les pouvoirs antigénétiques suivants pour l'acide salicylique dissous dans la soude : Bac. d'Eberth : 1/300, soit 3 g., 3 p. 1000 ; staphylocoque : 1/150, soit 6 g., 6 p. 1000 ; *Proteus vulgaris* : 1/400, soit 2 g., 50 p. 1000 ; *Proteus X* : 1/200, soit 5 g. p. 1000.

Th. Sabalitschka (471) n'a pu entraver le développement du *Penicillium glaucum* même avec 43 p. 1000 de salicylate de sodium, tandis que ce résultat était atteint avec 2 g., 14 d'acide salicylique.

En contradiction avec tous les auteurs précédents, H. Vincent (551) attribue au salicylate de sodium des propriétés antigénétiques élevées. « A 1 cm³ d'émulsion faiblement louche de divers microbes », l'auteur ajoutait : « I, II, V, X..., gouttes de solution saturée de ce sel. La pipette distributrice jaugeait 24 à 25 gouttes au cm³. Le mélange était agité, puis porté à +38°. On ensemait une goutte du mélange après 24 et 48 heures de contact ». Les subcultures étaient observées après 24 heures. Dans ces conditions :

I goutte suffisait pour empêcher la poussée du B. d'Hoffmann,

II gouttes empêchaient les bacilles paratyphiques A et B, et *b. perfringens*.

V gouttes empêchaient B. typhique, paratyphique, B. coli, B. diphtérique, *B. cuti communis*, B. pyocyane, streptocoque, entérocoque, *staphylococcus pyogenes aureus* et *albus*.

M. Garofeanu et E. Jean (279) obtiennent des résultats du même ordre. Avec des doses de 0 g., 10 à 0 g., 20 p. 100 toute poussée microbienne est arrêtée et, après lavage et repiquage des microbes, les auteurs concluent à la stérilité des

cultures. Ils trouvent toutefois par la méthode de Rideal et Walker, « un coefficient phénol 12 fois plus faible par rapport au phénol ».

Quoi qu'il en soit, l'opinion prédominante et qui apparaît fondée attribue à la salification une influence fortement affaiblissante sur le pouvoir antimicrobien.

H. — Isomères de l'acide salicylique : acides m- et p-oxybenzoïques

L'acide salicylique est l'acide orthooxybenzoïque. Il est intéressant de voir comment ses deux isomères, les acides métaoxybenzoïque $C^6H^4(CO^2H)_1(OH)_3$ et paraoxybenzoïque $C^6H^4(CO^2H)_1(OH)_4$ se comportent au point de vue bactéricide.

Jusqu'à ces derniers temps, ces deux isomères de l'acide salicylique, passaient, sur la foi des travaux de H. Kolbe pour dénués de tout pouvoir antiseptique. Th. Sabalitschka (473) a repris la question et établi au contraire que les acides m- et p-oxybenzoïques manifestent les mêmes propriétés que l'acide salicylique, quoiqu'à un moindre degré.

Pour empêcher la fermentation du glucose par exemple, la quantité nécessaire d'acide p-oxybenzoïque est trois fois plus forte, mais celle du phénol sept fois plus forte, que la quantité d'acide salicylique capable de produire le même effet.

Au point de vue du pouvoir antibiotique, Th. Sabalitschka donne les valeurs suivantes pour le degré d'action de ces acides : phénol 1; acide p-oxybenzoïque 3,6; acide salicylique 16, le germe en expérience étant le staphylocoque.

L'acide p-oxybenzoïque, loin d'être dépourvu de tout pouvoir antimicrobien se montre donc nettement supérieur au phénol, tout en restant au-dessous de l'acide salicylique.

Influence de l'introduction d'un deuxième et d'un troisième oxhydryle dans le noyau des acides monooxybenzoïques.

Nous avons traité plus haut (cf. p. 120) le cas de ces acides dioxybenzoïques en considérant l'influence de l'introduction d'un carboxyle dans le noyau des diphénoles.

Rappelons seulement que la position la plus favorable pour le groupement CO^2H est la position ortho par rapport à l'un au moins des oxhydyles. Ainsi l'introduction d'un deuxième OH dans l'acide p-oxybenzoïque diminue le degré d'action (levure) s'il est placé en méta par rapport au groupement CO^2H et l'élève s'il est placé en ortho. L'acide β -résorcylique ainsi formé $\text{C}^6\text{H}^3(\text{CO}^2\text{H})_1(\text{OH})^2_{2-4}$, est presque aussi actif que l'acide salicylique. Par contre, l'introduction d'un deuxième OH en para dans l'acide salicylique, ce qui donne l'acide 2-4-dioxybenzoïque, abaisse l'action de 6,7 à 1,4.

L'introduction d'un troisième groupement hydroxyle dans les acides dioxybenzoïques abaisse toujours l'action quelle que soit la position de cette nouvelle substitution (Th. Sabalitschka et H. Tietz).

I. — Esters des acides phénols

INFLUENCE DE L'ESTÉRIFICATION DE LA FONCTION ACIDE DES ACIDES OXYBENZOÏQUES

Nous avons vu plus haut que la salification diminue le pouvoir antiseptique ou désinfectant d'un corps à fonction acide. Il n'en est pas de même de l'estérification.

Si les esters d'acides gras se sont montrés très inégaux dans leur action sur les microorganismes (Will, 565; E. Hailer, 297; Lockemann et Ulrich, 396-397; W. Stoye, 520), des faits particulièrement intéressants ont été signalés dans la série aromatique.

Sans doute le salicylate de méthyle lui-même est-il considéré par la plupart des auteurs comme presque dénué

d'action bactéricide (H. Kolbe, 351 ; Th. Sabalitschka, 473-487 ; Read R.R. et Miller Ellis, 450). Mais, tandis que les acides benzoïque et salicylique sont doués d'une action plus forte que leurs esters méthyliques, il n'en va plus de même avec les isomères de l'acide salicylique. Les acides m- et p-oxybenzoïques voient leur action antimicrobienne fortement augmentée par estérification. Th. Sabalitschka et ses collaborateurs ont étudié une large série d'esters d'acides phénols et montré qu'on peut avantageusement les substituer aux acides phénols correspondants comme antiseptiques.

Ainsi les plus petites concentrations moléculaires par litre nécessaires pour empêcher le développement du *Penicillium glaucum* sont pour les acides et leurs esters métyliques respectivement :

	Acide	Ester
p-oxybenzoïque	0,062	0,005
m-oxybenzoïque	0,062	0,005
Anisique	0,009	0,004
Cinnamique	0,019	0,004

L'ester méthyl-p-oxybenzoïque, $C^6H^4(CO^2CH^3)_1(OH)_4$ empêche le développement du *Penicillium glaucum* et de l'*Aspergillus niger* avec une dose de 0,05 p. 100, de *Oidium lactis*, *Micrococcus caudicans*, *Sarcina lutea*, *Staphylococcus albus* avec 0,1 p. 100 de *Streptococcus longus* avec 0,124 p. 100.

Au point de vue antibiotique, 0,4 p. 100 de cet ester tue le staphylocoque en 3 heures de contact et 0,5 p. 100 en 1 heure ; 0,5 p. 100 tue le *B. coli* en 2 heures et 0,6 p. 100 en moins d'une heure.

INFLUENCE DE LA PARTIE ACIDE DE LA MOLÉCULE

L'activité de ces esters tient bien à la partie acide de la molécule, ainsi que l'a démontré Th. Sabalitschka (489) en préparant un certain nombre d'esters du glycérol, qui tous se sont montrés actifs, alors que le glycérol lui-même est à peine antiseptique.

INFLUENCE DE LA NATURE DU RADICAL ALKYLE ESTÉRIFIANT LA FONCTION ACIDE

Le degré d'action s'élève pour les esters de l'acide p-oxybenzoïque avec le poids moléculaire du groupement alkyle, depuis le méthyle jusqu'à l'amyle. Voici, d'après Th. Sabalitschka (476), les degrés d'action antibiotique vis-à-vis du Staphylocoque de quelques esters de l'acide p-oxybenzoïque (phénol = 1) :

P-oxybenzoate de	méthyle		2,6
—	éthyle		7
—	propyle		15
—	butyle		37
—	isoamyle		61

Il est à noter qu'inversement la toxicité diminue à mesure que la chaîne alkylée s'allonge (K. Schubel et J. Manger, 506).

La structure de la chaîne alkylée (ramifiée ou non saturée) est sans influence notable. Les esters propylique, isopropylique et allylique ont sensiblement la même action, le dérivé normal étant toutefois légèrement plus actif.

FORMATION DE DÉRIVÉS SODÉS

Les esters étudiés par Th. Sabalitschka, ont la propriété de former par leur fonction phénolique libre, des combinaisons sodées facilement solubles dans l'eau.

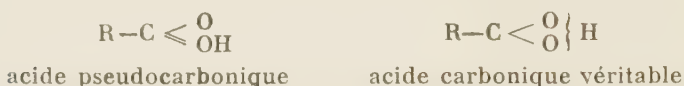
La transformation de l'ester en son dérivé sodé ne diminue pas l'action antibactérienne, comme le ferait la salification de la fonction acide. Cette curieuse propriété peut s'expliquer par le fait suivant : l'éther, qui n'enlève presque rien à une solution aqueuse de salicylate de sodium, entraîne p. ex. 25 0/0 de p-oxybenzoate de propyle sodé dissous dans l'eau. Ces combinaisons ont donc des propriétés physiques spéciales au point de vue : tension superficielle de leurs solutions, coefficients de partage, adsorption..., qui expliquent cette persistance de l'activité antimicrobienne (Th. Saba-

litschka et Cesar Pi Sunar Bayo, 207; Eschenbrenner et Rosenberg, 265).

HYPOTHÈSE TENDANT A EXPLIQUER L'INFLUENCE DE L'ESTÉRIFICATION SUR LE POUVOIR ANTIMICROBIEN

Ainsi, le blocage de la fonction acide des acides phénols par estérification augmente le pouvoir antimicrobien, tandis que la salification le diminue considérablement.

Pour Sabalitschka (471), cette différence entre les esters et les sels des acides peut s'expliquer par l'hypothèse de A. Hantzsch (305), d'après laquelle il existerait dans les acides carboniques un équilibre entre pseudo-acide et acide carbonique véritable :



La constitution de l'acide pseudo-carbonique (combinaison hydroxylée) se trouverait chez l'ester, tandis que celle de l'acide carbonique véritable serait celle du sel. Th. Sabalitschka admet, suivant cette hypothèse, que l'action empêchante appartient à l'acide pseudo-, puissamment actif, et que, par estérification, l'équilibre se déplace en faveur de celui-ci, tandis que la salification déplacerait l'équilibre en faveur de l'acide carbonique véritable, moins actif.

INFLUENCE DE L'INTRODUCTION D'UN DEUXIÈME OXYDRYLE DANS LES ESTERS P-OXYBENZOÏQUES

Comme pour les acides libres, l'introduction dans les esters étudiés ci-dessus d'un deuxième radical OH augmente l'action si la substitution a lieu en ortho et l'abaisse en méta, exemple :

	Degré d'action
p-oxybenzoate de propyle	25
2-4-dioxybenzoate de propyle	49
3-4-dioxybenzoate de propyle	8,1

(vis-à-vis de la fermentation alcoolique).

Le degré d'action le plus élevé est atteint lorsque le carboxyle estérifié se trouve en ortho et para par rapport aux deux oxydryles; ensuite vient la position diortho, la plus faible activité caractérisant la position diméta. (Th. Sabalitschka et H. Tietz).

INFLUENCE DE L'ÉTHÉRIFICATION DE LA FONCTION PHÉNOL DES ACIDES PHÉNOLS ET DE LEURS ESTERS

La disparition de la fonction phénol par formation d'un éther-oxyde ne supprime pas l'action des acides phénols ou de leurs esters. Au contraire, le blocage de l'oxydryle par un alkyle augmente la puissance bactéricide aussi bien pour l'acide p-oxybenzoïque que pour ses esters. Ainsi le méthylester de l'acide p-méthoxybenzoïque, $C^6H^4(CO^2CH^3)_1(OCH^3)_4$, est trois fois plus actif que le méthylester de l'acide p-oxybenzoïque et aussi actif que l'éthylester de ce dernier acide.

Observations semblables en ce qui concerne les esters éthyliques des acides p-méthoxy- et p-oxybenzoïques. L'augmentation d'action antimicrobienne par méthylation de la fonction phénol est encore plus grande pour les acides libres: l'acide anisique, $C^6H^4(CO^2H)_1(OCH^3)_4$, est doué d'un pouvoir antiseptique plus élevé que l'acide p-oxybenzoïque. De même la méthylation de l'oxydryle en position para dans l'acide β -résorcylique, fait passer le degré d'action de 6,8 à 8,9 (Th. Sabalitschka, 473).

Le degré d'action étant de 0,8 pour l'acide protocatéchique $C^6H^3(CO^2H)_1(OH)_{3-4}$, monte à 3,1 pour l'acide vanillique, $C^6H^3(CO^2H)_1(OCH^3)_3(OH)_4$, et à 6,8 pour l'acide vératrique $C^6H^3(CO^2H)_1(OCH^3)_{2-3-4}$ (Th. Sabalitschka).

Notons cependant que pour A. D. Hirschfelder et L. J. Pankoff (314) l'éthérification de l'oxydryle de l'acide salicylique par un radical éthyle n'augmente pas le pouvoir antimicrobien.

INFLUENCE DE LA GLUCOSIDIFICATION DE LA FONCTION PHÉNOL DES ESTERS DES ACIDES PHÉNOLS

Lorsque la fonction phénol est éthérifiée par le glucose, cette transformation d'un acide phénol ou d'un ester d'acide

phénol doué de propriétés bactéricides dans le glucoside correspondant a pour effet, d'après Th. Sabalitschka et F. L. Schweitzer (490), ou bien de diminuer légèrement l'action ou bien de ne pas la modifier sensiblement.

Nous pouvons toutefois rapprocher de ces conclusions les expériences de E. Glaser et H. Prüfer (285), E. Glaser et Wulwek (286) sur divers nitrophénols et leurs glucosides. D'après ces auteurs, le pouvoir bactéricide élevé des nitrophénols, qui a été mis en évidence par G. Mazetti (413), se trouve supprimé par glucosidification de la fonction phénol. Les glucosides du m-nitrocrésol et des nitrophénols n'auraient aucun pouvoir bactéricide tant qu'ils ne sont pas dédoublés et exerceraient au contraire une influence favorable sur la poussée microbienne en tant que constituant une substance nutritive supplémentaire dans le milieu.

Nous venons de suivre l'influence de l'introduction d'un groupement carboxyle dans le benzène, puis dans le phénol; nous avons vu aussi comment le blocage soit de la fonction phénol par éthérification, soit de la fonction acide par estérification réagit sur les propriétés antimicrobiennes des acides phénols.

Nous dirons maintenant quelques mots sur l'introduction d'un groupement CHO ou d'un groupement CH_2OH dans le benzène et dans le phénol. Nous étudierons successivement l'aldéhyde et l'alcool benzyliques, puis l'aldéhyde et l'alcool salicyliques. Les renseignements, que nous avons pu recueillir dans la littérature, concernant l'action antimicrobienne de ces corps sont d'ailleurs peu nombreux.

J. — Aldéhyde benzoïque : $\text{C}^6\text{H}_5\text{-CHO}$

E. A. Cooper (221) estime son action antiseptique 10 fois supérieure à celle du phénol.

David I. Macht et Justina H. Hill (409) indiquent que le staphylocoque et diverses autres bactéries sont tués en une minute par une solution huileuse à 1/10 et en 1 à 3 heures par une solution à 1 p. 100.

Le benzaldéhyde est nettement supérieur à l'alcool benzylique, d'après ces auteurs.

K. — Alcool benzylique : $C^6H^5-CH^2OH$

Le bacille typhique et le staphylocoque sont tués en 30 minutes par 0,50 p. 100 d'alcool benzylique, le gonocoque par 0,15 p. 100 en 30 minutes également (F. Ishiwara, 318).

Le staphylocoque est tué en 1 minute par une solution huileuse à 1 p. 10 et en 5 heures par une solution à 1 p. 100 (Macht et Hill, 409). Une dose de 0,4 p. 100 dans du bouillon tue le staphylocoque et le *B. coli* (Macht et Satani, 406, 410). Une solution à 2-3 p. 100 tue le gonocoque en 5 minutes (Swartz, 521).

Par contre H. Douglas Cheeseworth et Evelyn Ashley Cooper (210) ne reconnaissent à l'alcool benzylique qu'une très faible action de désinfection.

Les esters de l'alcool benzylique sont très peu actifs (Macht et Hill, 407, 409).

L. — Aldéhyde salicylique : $C^6H^4(CHO)_1(OH)_1$

D'après Bokorny (188), 0,02 p. 100 d'aldéhyde salicylique empêchent la putréfaction pendant 14 jours. Aux concentrations supérieures à 0,02 p. 100, il empêche toute formation de moisissures.

Samter fait observer au sujet du travail de Bokorny qu'il avait bien auparavant observé que l'aldéhyde salicylique a

une action plus forte que l'acide. A la concentration de 0,1 p. 100 il a une action inhibitrice indiscutable, mais l'auteur, conteste qu'il agisse comme désinfectant.

E. Salkowski (493) le donne aussi comme fortement anti-génétique.

Une solution à 1 p. 100 dans le dioxystéarate de potassium comme dissolvant tue le staphylocoque en 35 minutes (H. K. Laubenheimer, 377).

Le bacille typhique et le staphylocoque sont tués en 30 minutes par 0,2 p. 100 d'aldéhyde salicylique, le gonocoque dans le même temps par 0,25 p. 100.

M. — Alcool salicylique : $C^6H^4(CH^2OH)_1(OH)_2$

L'alcool salicylique ou saligénol à la dose de 0,1 p. 100 n'empêche pas la putréfaction et très peu la formation des moisissures (Bokorny, 188).

G. Cohn (219) a trouvé que la croissance des bactéries cholériques est empêchée par une solution à 0,1 p. 100 ; une solution à 0,75 p. 100 les tuerait au plus tard en 3 heures, une solution à 2 p. 100 en 30 minutes. Le staphylocoque serait empêché avec 0,20 p. 100, mais il exige un contact de 24 heures pour être annihilé par une solution à 2 p. 100. Le bacille de la diphtérie est un peu plus résistant vis-à-vis du saligénol que le vibron cholérique.

Une solution à 0,2 p. 100 ne tue pas le gonocoque en 30 minutes (Ishiwara).

Une solution de saligénol à 2 p. 100 (dans le sérum) tue le pneumocoque en 60 minutes, ainsi que le gonocoque.

Par contre R.R. Read et Miller Ellis attribuent au saligénol le coefficient 0 et concluent que le remplacement d'un atome d'hydrogène par un atome d'oxygène dans le groupement méthyle du crésol diminue considérablement l'action.

Hirschfelder, Hart et Kucera (313) relatent également que l'introduction d'un groupement CH^2OH dans le phénol diminue notablement l'action antiseptique. L'introduction d'un deuxième CH^2OH (p-énésol) la supprime complètement.

Anastasios A. Christomanos (215), qui a essayé les trois alcools oxybenzoïques isomères, ne leur a reconnu qu'un faible pouvoir antimicrobien. Il classe ces alcools par ordre d'action décroissante de la manière suivante : para>méta>ortho, tandis que les acides se rangent, d'après lui, dans l'ordre : ortho>méta>para.

II. — DERIVES HALOGENES

INFLUENCE DE L'HALOGÉNATION

SUR LE POUVOIR ANTIMICROBIEN DES CORPS PHÉNOLIQUES

Partis du benzène, nous venons de passer en revue les faits acquis concernant les variations du pouvoir microbicide provoquées par l'introduction dans ce noyau fondamental de groupements OH, CO²H, CHO, CO²H ou par la formation de dérivés des diverses fonctions ainsi créées. Reprenons maintenant les corps étudiés et voyons comment se trouvera modifiée leur action antimicrobienne si l'on remplace un ou plusieurs atomes d'hydrogène nucléaires par des éléments halogènes.

A. — Carbures benzéniques halogénés

Bien qu'un certain nombre de dérivés halogénés de ces carbures aient été proposés comme agents insecticides, il ne semble pas que l'halogénéation conduise à une augmentation notable du pouvoir antibactérien. Fusao Ishiwara tient les dérivés halogénés du benzène pour entièrement dénués d'action. Par contre J. Goessl (287) trouve au monochlorobenzène et au monochlorotoluène une très forte action antigénétique sur la levure de bière, et A. Morel, A. Rochaix, Y. Dumas (247, 420), qui ont étudié les dérivés monohalogénés et dihalogénés du benzène, reconnaissent que le pouvoir antigénétique et le pouvoir antibiotique sont augmentés par l'introduction d'un atome et encore davantage par l'introduction de deux atomes d'halogènes. Leur action antimicrobienne reste

cependant bien inférieure à celle des substances halogénées dont il va être question maintenant.

B. — Phénols halogénés

Le remplacement d'un ou plusieurs atomes d'hydrogène du noyau par un nombre équivalent d'atomes d'halogènes élève d'une manière générale le pouvoir désinfectant des phénols. Ce renforcement de l'action désinfectante augmente avec le nombre des atomes d'halogènes substituants au moins jusqu'à une certaine limite. Toutefois la progression ne serait pas régulière ; la différence la plus accentuée accompagnerait le premier halogène substitué, l'introduction de nouveaux éléments semblables ne provoquerait que des augmentations moins importantes et conduirait plus ou moins rapidement à la limite (H. Bechold et E. Ehrlich, 171).

Les halogénophénols sont de plus puissants désinfectants que le phénol. D'après H. Bechold et E. Ehrlich, 1 molécule de pentabromophénol, 20 mol. de trichlorophénol ou 8 mol. de tétrachlorophénol exercent la même action sur le bacille diphtérique que 500 mol. de phénol. P. Guillot (291) et P. Bayle (165), qui ont étudié le premier le tétrachloro-, le second le pentachlorophénol, ont obtenu des résultats concordant avec ceux de H. Bechold et E. Ehrlich.

F. Ishiwara indique que l'iodophénol à la concentration de 0,1 p. 100 tue le bacille typhique et le staphylocoque en 30 minutes ; à la concentration de 0,05 p. 100, le triiodophénol tue le gonocoque en 30 minutes.

Le chlorothymol est beaucoup plus antiseptique que le thymol (H. K. Laubenheimer, 378). Son isomère le chlorocarvacrol serait encore plus actif (Philipp et Kuhn, 361).

Le chlore élève de même l'action des benzyldérivés des phénols ; autrement dit les oxydiphénylméthanés sont moins désinfectants que les halogénooxydiphénylméthanés (E. Klarman et Von Wowern, 343).

Les naphhtols halogénés, étudiés par H. Bechold (170), sont bien plus efficaces que les naphhtols non substitués.

P. Portier et H. Kling (443) ont reconnu que certaines peintures contenant des halogénophénols exercent une très puissante action antiseptique vis-à-vis des germes arrivant à leur contact.

Il est intéressant de remarquer que *les substitutions halogénées jouent, quant au pouvoir antimicrobien, un rôle tout à fait comparable aux substitutions alkylées.*

INFLUENCE DE LA QUALITÉ DE L'HALOGÈNE.

L'influence de la qualité de l'halogène substituant sur le pouvoir désinfectant ne semble pas suivre une règle fixe. Suivant les cas tel des trois éléments halogènes se montre supérieur aux deux autres, ou égal, ou inférieur.

F. Ishiwara considère que dans les combinaisons organiques, l'iode manifesterait l'action la plus forte, ensuite viendraient le chlore, puis le brome.

Par contre pour les dérivés de l'hydroquinone, les bromés seraient plus efficaces que les chlorés (E. Cooper et Woodhouse, 225).

Le p-bromocrésol serait un peu plus faible que le p-chlorocrésol (Fraenkel, 273).

Bien d'autres exemples pourraient être cités, et nous en rencontrerons encore au cours de ce travail, qui montreraient que le renforcement du pouvoir désinfectant par les halogènes ne montre aucun rapport assuré avec la nature de l'élément envisagé.

Il faut aussi tenir compte que les résultats peuvent être grandement influencés suivant l'espèce bactérienne mise en expérience.

Par exemple dans la série des halogénodioxydiphénylméthanés les dérivés bromés se montrent supérieurs aux dérivés

chlorés vis-à-vis des bactéries à gram + ; c'est le contraire pour les bactéries à gram —.

Parmi les dérivés monohalogénés du naphtol (H. Bechold, 170), les dérivés bromés sont plus actifs que les dérivés chlorés correspondants vis-à-vis du staphylocoque. Avec le streptocoque, le monochloronaphtol a une puissance de désinfection sensiblement égale et le dichloronaphtol une puissance un peu supérieure à celle des combinaisons mono- et dibromées respectivement, tandis que le tribromonaphtol est nettement supérieur au trichloronaphtol. Vis-à-vis des bacilles diphtériques, les monochloro- et monobromonaphtols sont sensiblement égaux ; le dibromonaphtol est déjà supérieur au dérivé dichloré, différence qui s'accroît encore avec le tribromonaphtol comparativement au trichloronaphtol. Avec le *B. coli*, la marche est aussi irrégulière : le monochloronaphtol est, peut-être un peu plus fort que la combinaison monobromée, tandis qu'inversement le dibromodérivé possède à nouveau une puissance de désinfection supérieure ; avec les dérivés trihalogénés le rapport se retourne encore, le trichloronaphtol étant beaucoup plus actif que le tribromo-

C. — Alkylphénols halogénés

INFLUENCE DE L'INTRODUCTION D'UN ALKYLE DANS LES HALOGÉNOPHÉNOLS.

De même que les phénols alkylés sont supérieurs aux phénols non substitués, de même les halogénophénols alkylés sont supérieurs aux halogénophénols non alkylés.

Ainsi les halogénocrésols ont une action plus efficace que les halogénophénols, comme les crésols sont plus actifs que le phénol. Le tétrabromo-o-crésol est plus de 16 fois plus actif que le tétrachlorophénol et 250 fois aussi puissant que le phénol (H. Bechold et E. Ehrlich). Le chloro-m-crésol à 1 p. 100 tue le staphylocoque en 30 secondes (H. K. Laubheimer).

Le renforcement dû à l'alkylation augmente avec la grandeur de l'alkyle et le nombre des groupements alkyles.

Les xylénols halogénés ont un pouvoir désinfectant plus élevé que les crésols halogénés (N. F. Rapp, 447). Le tri-bromo-m-xylénol est 20 fois plus actif que le tribomophénol (H. Bechold et E. Ehrlich).

E. Klarmann, A. Shternow et L. W. Gates (340-341) ont étudié les dérivés alkylés des o- et p-chlorophénols. Pour les germes à Gram—, le maximum d'action est obtenu avec le groupement n-propyl- et se maintient jusqu'au groupement n-amyl-. Par contre pour les germes à Gram+, l'augmentation continue plus loin que le n-propyl- pour atteindre son maximum au n-octyl-.

D'autre part le groupement amyle secondaire exerce une action plus faible que le groupement amyle normal ; de même le dérivé cyclohexylé est moins actif que le dérivé hexylé normal.

Nous retrouvons donc ici les règles que nous avons déjà rencontrées en étudiant les substitutions alkylées chez les phénols non halogénés, savoir : les groupements alkyles renforcent l'action antimicrobienne ; les chaînes alkylées non ramifiées sont plus actives que les chaînes ramifiées ou cycliques.

INFLUENCE DE L'ISOMÉRIE DE POSITION

La place occupée par le ou les halogènes sur le noyau par rapport à la fonction phénolique ou aux autres substituants exerce une influence sur le pouvoir désinfectant, mais, pas plus pour la substitution halogénée que pour la substitution alkylée, il n'existe de règle permettant de prévoir une augmentation ou une diminution de puissance suivant les isomères envisagés.

D'après Sprengler (cité par H. Béchold) le p-chlorophénol serait plus puissant que l'o- et que le m-. Pour Karpow (d'après Houben, 316), l'action désinfectante du m-chlorophénol

sur les spores de charbon serait plus forte que celle du p-chlorophénol et moins forte que celle de l'ortho-. Au contraire, d'après Cooper et Woodhouse (225), l'action des trois monochlorophénols décroîtrait dans l'ordre $m > p > o$. T. Kuroda (362) se range aux conclusions de Cooper et Woodhouse.

Pour H. Bechold, le chlorométacrésol est plus puissant que le para-, qui est lui-même supérieur à l'ortho-. H. K. Laubenheimer, E. Hailer (d'après M. Tiffeneau, 524) reconnaissent aussi le pouvoir de ce m-chlorocrésol.

Les o-alkyl-p-chlorophénols seraient plus efficaces que les p-alkyl-o-chlorophénols (E. Klarmann, W. Shternow, L. Gatyès, 335, 336).

Parmi les xylénols halogénés, les chlorodérivés des xylénols 1-2-3- et 1-2-4- sont les plus actifs ; avec le brome et l'iode le renforcement serait plus intense pour le xylénol 1-3-4- (Lockemann et Kunzmann, 395).

Les 5-halogéno-2-oxydiphénylméthanés sont supérieurs aux 3-halogéno-4-oxydiphénylméthanés (E. Klarmann, W. Shternow et Gatyès, 334).

On pourrait ainsi multiplier les exemples sans arriver à dégager aucune règle certaine fixant les relations entre l'isomérisie de position et l'activité bactéricide.

En conclusion, nous retiendrons de cet exposé que l'introduction d'un ou plusieurs atomes d'éléments halogènes dans le noyau des corps phénoliques a le plus généralement pour effet d'accroître, et souvent dans des proportions considérables, la puissance de désinfection tout au moins jusqu'à une certaine limite dans le nombre des substitutions. Les substitutions halogénées agissent donc dans le même sens que les substitutions alkylées.

Il n'apparaît pas qu'il existe de lois absolument générales, concernant l'influence de la qualité des halogènes ou

de l'isomérisie de position. On ne peut qu'enregistrer les résultats obtenus dans chaque cas particulier.

D. — Acides halogénobenzoïques

L'action antiseptique de l'acide benzoïque est renforcée par le chlore. L'acide p-chlorobenzoïque $C^6H^4(CO^2H)_1(Cl)_1$, à l'état de sel de sodium a été proposé comme agent de conservation sous le nom de « microbine » (G. Mannich). D'après Neiszer et Tillmans (429), C. v. d. Heide et R. Föllén (306), A. Widner, O. E. Kalberer et P. Braun (564), la microbine agit sur *B. coli*, la levure et les moisissures plus fortement que le benzoate de sodium, aussi bien au point de vue antigénétique qu'au point de vue antibiotique.

Par contre A. Arkin (159) ne trouva aucune action bactéricide (*B. typhique*) à l'acide iodobenzoïque, ce qui fut confirmé par Fr. Jahn (319).

Nous n'avons relevé aucun travail concernant les aldéhydes et les alcools benzoïques halogénés au point de vue antimicrobien.

E. — Acides oxybenzoïques halogénés

L'halogénéation agit en général sur les acides-phénols comme sur les phénols en renforçant le pouvoir désinfectant.

Pour ne citer qu'un exemple, les degrés d'action antigénétique vis-à-vis de la levure et antibiotique vis-à-vis du staphylocoque seraient, d'après Th. Sabalitschka (473), les suivants pour l'acide p-oxybenzoïque et son dérivé m-chloré (le phénol étant pris pour unité) :

	Antigénétique (levure)	Antibiotique (staphylo)
Phénol	1	1
Acide p-oxybenzoïque	2,2	3,6
Acide m-chloro-p-oxybenzoïque . .	5,2	37

La salification diminue l'action pour les acides halogénés comme pour les acides non halogénés (Sabalitschka).

ACIDES SALICYLIQUES HALOGÉNÉS.

Rochaix et Pinet (464) ont étudié les acides salicyliques chlorés et bromés au point de vue antigénétique vis-à-vis de plusieurs espèces bactériennes et ont constaté que le pouvoir antiseptique est augmenté par l'introduction des éléments halogènes, notamment du brome. Ils ont donné les doses antigénétiques que nous reproduisons ci-dessous. Ces auteurs ont utilisé « au lieu des acides eux-mêmes les sels de soude préparés par saturation exacte molécule à molécule. Ils en ont fait des solutions mères dont 10 cm³ correspondaient à 1 g. d'acide halogéné et auxquelles ils ont laissé une légère alcalinité, de façon à éviter la reprécipitation du sel mis en solution ». (Notons que nous n'avons pas reconnu une solubilité aussi élevée aux acides dichloré et dibromé, même en employant deux mol. de soude pour une mol. d'acide.)

« La recherche du pouvoir microbicide a été effectuée en ajoutant à des tubes renfermant de l'eau peptonée (6 cm³) des doses progressivement croissantes des différents dérivés, puis 11 gouttes d'une culture microbienne de 24 heures. »

« Les tubesensemencés étaient placés à l'étuve à +37° et examinés les jours suivants. »

Voici les valeurs données par ces auteurs :

	B. Eberth	Staphylo	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Proteus X</i>
Acide salicylique	1/300	1/150	1/400	1/200
Acide 5-monochloré . . .	1/300	1/300		
Acide 3-5-dichloré	1/300	1/300		
Acide 5-monobromé . . .	1/600	1/1200	1/1200	1/1500
Acide 3-5-dibromé	1/2400	1/9600	1/2400	1/7200

En rapportant à 1000 on obtient les doses antigénétiques suivantes :

	B. Eberth	Staphylo	<i>Proteus</i> <i>vulgaris</i>	<i>Proteus</i> <i>X</i>
Acide salicylique	3 g., 3	6 g., 6	2 g., 5	5 g.
Acide 5-monochloré . .	3 g., 3	3 g., 3		
Acide 3-5-dichloré . . .	3 g., 3	3 g., 3		
Acide 5-monobromé . .	1 g., 66	0 g., 83	0 g., 83	0 g., 66
Acide 3-5-dibromé . . .	0 g., 416	0 g., 10	0 g., 416	0 g., 138

Les auteurs concluent :

« La chloration ne paraît donc pas élever de façon notable le pouvoir microbicide de l'acide salicylique. Vis-à-vis du B. d'Eberth en particulier, le pouvoir reste exactement le même. Par contre la bromuration élève ce pouvoir microbicide de 2 à 8 fois vis-à-vis de l'Eberth et de 8 à 64 fois vis-à-vis du staphylocoque. »

F. — Esters des acides phénols halogénés

INFLUENCE DE L'HALOGÉNATION SUR LE POUVOIR ANTIBACTÉRIEN DES ESTERS D'ACIDES-PHÉNOLS.

L'halogénéation des esters des acides-phénols provoque également une augmentation de l'activité comparativement aux esters non halogénés : degré d'action de l'ester propylique de l'acide p-oxybenzoïque $C^6H^4(CO^2C^3H^7)_1(OH)_4$: 25, degré d'action de l'ester propylique de l'acide m-chloro-p-oxybenzoïque $C^6H^4(CO^2C^3H^7)_1(Cl)_3(OH)_4$: 40 (empêchement de la fermentation par la levure) (Th. Sabalitschka).

Comme pour les esters des acides non halogénés, les esters d'un même acide halogéné voient leur action s'accroître avec le poids moléculaire du groupement alkyle estérifiant le carboxyle. Tandis que le degré d'action augmente du p-oxybenzoate de méthyle 2,6 au p-oxybenzoate d'isoamyle 6,1, pour les dérivés halogénés correspondants le degré d'action passe de 9,3 pour le m-chloro-p-oxybenzoate de méthyle à 225 pour le m-chloro-p-oxybenzoate d'iosamyle.

Quant à la structure de la chaîne alkylée, la ramification de cette chaîne ou la présence d'une double liaison n'a que peu d'influence ; la règle est donc la même que pour les esters non halogénés. Th. Sabalitschka a montré que les esters propylique, isopropylique et allylique de l'acide m-chloro-p-oxybenzoïque se comportent sensiblement de la même manière.

L'estérification par le glycérol diminue l'action des acides halogénés. L'acide m-chloro-p-oxybenzoïque présentera par exemple un degré d'action égal à 37, bien supérieur à son ester glycérique avec un degré d'action égal à 4,2.

L'halogénéation renforce l'action des esters glycériques. L' α -salicylglycérol a un degré d'action égal à 0,3 ; l' α -p-iodosalicylglycérol a un degré d'action égal à 9.

Le p-oxybenzoate de la dichlorhydrine ou p-oxybenzoate d' α - γ -dichlorisopropyle, dans lequel le chlore est supporté par la chaîne alkylée, et non plus par le noyau benzénique, montre une action bactéricide assez forte (degré d'action = 61), la dichlorhydrine elle-même, alcool α - γ -dichlorisopropylique, ayant un degré d'action = 1 comme le phénol.

Notons enfin que la glucosidification de la fonction phénol diminue l'action : glucoside de l'acide m-chloro-p-oxybenzoïque, degré d'action : 4,3 (acide libre : 37) (Th. Sabalitschka, 490).

En résumé, l'halogénéation a presque toujours pour résultat une augmentation du pouvoir bactéricide. L'action antimicrobienne dans les différentes séries de corps varie généralement dans le même sens pour les dérivés halogénés et pour les dérivés non halogénés, mais elle est plus intense pour les premiers.

Enfin, bien que n'entrant pas dans le cadre que nous nous sommes tracé, nous rappellerons en terminant l'action de certains antiseptiques et spécialement de l'acide salicylique et de ses dérivés halogénés sur les toxines microbiennes. Cette propriété, déjà entrevue par R. H. Sallet et J. Zeelander (494) en 1911 et par E. Salkowski (492) en 1913, a été surtout étudiée par H. Vincent et L. Velluz (541 à 545, 550, 552 à 555) qui désignent sous le nom de « cryptoxines » les toxines ainsi dépourvues de leurs propriétés toxiques, mais conservant leurs propriétés immunigènes. H. Vincent et L. Velluz ont montré que, spécialement dans cette série salicylique, c'est l'acide 3-5-diiodosalicylique qui exerce l'action cryptotoxique la plus élevée.

CHAPITRE II

METHODES D'ESSAI DES DESINFECTANTS

Les méthodes d'essai des désinfectants ont fait récemment l'objet d'une thèse très approfondie (S. Lambin, 370), effectuée également sous la direction de M. J. Régnier, dans le même laboratoire que le présent travail.

Nous allons, au point de vue des essais généraux des antiseptiques, rappeler quelques-unes des méthodes passées en revue dans cette thèse. Nous verrons les principales critiques formulées par l'auteur à l'égard des méthodes admises jusqu'alors et nous indiquerons les raisons pour lesquelles nous nous sommes rallié aux techniques mises au point et utilisées dans le laboratoire où nous travaillions.

Toutefois, à la différence de S. Lambin qui, pour l'établissement de ces techniques, s'était attachée à déterminer le pouvoir désinfectant de produits courants (phénol, sublimé) et particulièrement celui des éléments halogènes (chlore, brome, iode) à l'état libre, nous avons appliqué ces mêmes techniques au cas de corps phénoliques simples ou halogénés, ce qui nous a donné l'occasion d'étudier des séries complètes de corps et de comparer les résultats obtenus avec l'une ou l'autre des techniques utilisées.

Nous avons dit, dans notre avant-propos, qu'un désinfectant pouvait exercer sur les microorganismes deux actions différentes :

1° En arrêter seulement le développement dans un milieu déterminé, sans en provoquer cependant la stérilité complète, en sorte que le développement pourrait reprendre une fois le désinfectant éloigné ou les microbes transplantés dans un autre milieu : *action antigénétique* ;

2° Provoquer la mort de tous les microorganismes présents dans le milieu et, par conséquent, la stérilité complète de ce milieu : *action antibiotique*.

Il est à remarquer dès maintenant qu'il n'y a pas forcément corrélation entre ces deux sortes d'action. Il peut se trouver des substances à action antigénétique élevée et à action antibiotique nulle (S. Lambin; Th. Sabalitschka, 476 et d'autres). C'est le cas par exemple du toluène.

La valeur d'un désinfectant dépend donc surtout de son pouvoir antibiotique, la *dose antibiotique* étant représentée par la quantité de désinfectant qu'il suffit d'ajouter à un litre d'un milieu déterminé pour tuer, en un temps donné, une quantité connue de germes.

Aussi les méthodes qui ont été préconisées pour la détermination du pouvoir désinfectant ont-elles eu pour but généralement d'évaluer la dose antibiotique du produit.

L'action antigénétique — qui peut jouer un rôle important au cours de l'essai antibiotique, comme nous le constaterons plus loin — bien qu'elle ait été pressentie dès le début par certains auteurs, n'en a pas moins été longtemps négligée ou sous-estimée dans les méthodes proposées. Nous allons voir que toutes sont justiciables de critiques à ce point de vue, soit que l'on n'ait pas tenu compte de l'action antigénétique, soit que les moyens destinés à l'éliminer, se soient trouvés en réalité inopérants.

Il importe donc, dans l'essai d'un désinfectant, de déterminer toujours la *dose antigénétique* — c'est-à-dire la quantité de désinfectant qu'il suffit d'ajouter à un litre de bouil-

lon de culture pour y empêcher le développement d'une quantité connue de germes dans des conditions favorables déterminées — concurremment avec la dose antibiotique et nous indiquerons plus loin comment on doit tenir compte de l'essai antigénétique dans l'appréciation de la valeur antibiotique.

L'essai antibiotique consiste en principe à laisser les microbes en contact pendant un temps déterminé avec le désinfectant à différentes concentrations, puis, au bout de ce temps, à déterminer la concentration ayant provoqué la *mort* de *tous* les microbes en les plaçant à nouveau dans un milieu nutritif présentant les conditions de cultures les plus favorables.

Il est donc indispensable au premier chef de connaître de façon aussi précise que possible les multiples facteurs qui peuvent intervenir dans la détermination du pouvoir antimicrobien (Cf. p. ex. H. Bechhold, 166 ; A. Rochaix, 463 ; Lloyd, 393,...). Ces facteurs ont été soumis dans le travail de S. Lambin à une étude critique très serrée, qui a permis d'établir sur des bases solides les méthodes proposées pour l'essai des désinfectants.

FACTEURS INFLUENÇANT LA DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIMICROBIEN

Dans toute opération désinfectante, nous aurons trois termes principaux à considérer :

- a) *la solution désinfectante ;*
- b) *les microbes ;*
- c) *le milieu dans lequel s'effectue le contact.*

Enfin les conditions de la subculture devront être précisées avec soin.

a) Le désinfectant doit être, cela va sans dire, un corps pur ou une substance de composition constante. On ne doit donc avoir à considérer que son mode de dissolution, sa con-

centration et les propriétés de cette dissolution (pH, ionisation, tension superficielle...).

b) Pour ce qui est de l'organisme microbien, il est capable d'influer sur les résultats de l'expérience : 1° par sa *quantité* ; 2° par sa *qualité* (espèce, souche et entretien de la souche, milieux de culture, âge, vitalité...) ; 3° par les modifications que lui aura fait subir le *milieu* dans lequel il aura été mis en suspension (ou bien par la façon dont les germes auront été amenés en contact avec le désinfectant : « portegermes »).

c) Dans le milieu intermédiaire où aura lieu le contact antiseptique-germes, il y a lieu de distinguer suivant que le milieu est constitué par une solution aqueuse ou qu'il renferme, en plus du désinfectant, des substances salines, albuminoïdes ou autres matières organiques.

L'action du désinfectant sera étroitement liée aussi au *temps de contact* et à la *température de l'essai*.

Enfin il faudra définir exactement les *conditions de la subculture*. Il est manifeste en effet qu'en prélevant des germes dans le milieu contenant l'antiseptique pour les ensemen- cer dans un milieu nutritif, on y transportera en même temps une petite quantité de l'antiseptique et c'est alors que l'action antigénétique, en empêchant au moins partiellement le développement de germes déjà amoindris dans leur vitalité, pourra fausser plus ou moins complètement la détermination de la valeur antibiotique.

Tels sont, rapidement énumérés, les différents facteurs qui doivent être pris en considération dans l'essai des désinfectants.

Voyons maintenant comment il en a été tenu compte dans les techniques proposées jusqu'à présent.

TECHNIQUES PROPOSÉES POUR LA DÉTERMINATION
DU POUVOIR ANTIMICROBIEN DES SUBSTANCES CHIMIQUES

Toutes les méthodes imaginées pour l'essai des désinfectants peuvent être classées en deux groupes principaux : méthodes dites des « *porte-germes* » et méthodes des *suspensions*.

(On pourrait citer un troisième groupe, comprenant les méthodes dans lesquelles les germes sont ensemencés dans un milieu nutritif solide, contenant l'antiseptique. Ces méthodes ne présentent qu'un intérêt restreint ; nous ne nous y arrêterons pas.)

Dans les deux groupes principaux, nous laisserons de côté celui des méthodes dites des « *porte-germes* » [méthode des fils de R. Koch (349), méthode des grenats de Paul et Krönig (360, 436, 437)], à peu près abandonnées aujourd'hui et d'ailleurs passibles de nombreuses critiques quant aux résultats obtenus, notamment en ce qui concerne la dessiccation des germes, qui en atténue la vitalité, et le nombre des germes finalement transplantés dans le milieu de subculture, que l'on ne peut évaluer en aucune façon, ainsi que l'adsorption éventuelle du désinfectant par le porte-germes quand celui-ci est de nature végétale (G. Lockemann et Werner Ulrich, 399).

On n'en doit pas moins reconnaître que ces méthodes, imaginées par les auteurs allemands, avaient précisément pour but de supprimer [par lavages ou neutralisation chimique ; H. Bechhold (166) donne la préférence au lavage sur la neutralisation chimique] l'influence perturbatrice de l'action antigénétique, sans d'ailleurs pouvoir prétendre y parvenir rigoureusement.

Nous avons utilisé uniquement des méthodes relevant du groupe des méthodes des « *suspensions* ».

Dans ces méthodes, les microbes sont mis en suspension dans un milieu liquide. On prélève des volumes déterminés de ces suspensions qu'on introduit dans différentes dilutions

du désinfectant et c'est une portion déterminée de chacun de ces mélanges que l'on transporte au bout d'un temps donné dans le milieu de subculture.

Parmi les méthodes proposées, les unes permettent d'obtenir des résultats en valeurs absolues, les autres en valeurs relatives.

Les méthodes donnant des résultats en valeurs absolues avaient été peu étudiées jusqu'à ces derniers temps et d'ailleurs en vue de cas très particuliers. Au contraire les méthodes donnant des résultats en valeurs relatives ont fait l'objet de nombreux travaux. Ce sont ces méthodes que nous étudierons tout d'abord.

I. — METHODES DONNANT DES RESULTATS EN VALEURS RELATIVES

Au nombre de ces méthodes, la plus importante est celle de Rideal et Walker (460-461), ou méthode des *coefficients phénol*, parue en 1901.

A. — Méthode de Rideal et Walker

Cette méthode consiste à comparer les résultats obtenus avec le corps à étudier aux résultats donnés par le phénol dans des conditions identiques. Le pouvoir désinfectant de chaque corps est ainsi exprimé en fonction du phénol, par un « *coefficient phénol* ».

La méthode de Rideal et Walker est officielle en Angleterre. Elle a reçu d'ailleurs d'assez nombreuses modifications, dont plusieurs sont officielles également dans certains pays étrangers. On voit d'après cela qu'elle jouit d'un grand crédit et nous devons être naturellement incité à la prendre en considération, les corps que nous avons à étudier présentant tous une fonction phénolique. Nous allons donc la

rappeler dans ses grandes lignes et nous verrons les raisons qui nous ont décidé à la rejeter finalement.

Voici d'abord un résumé de la technique originale de l'essai selon Rideal et Walker :

On prépare quatre dilutions différentes du désinfectant essayé, dilutions convenant aux conditions de l'essai.

On introduit dans quatre tubes à essais stériles un volume de 5 cm³ de chacune de ces quatre dilutions et l'on ajoute dans chaque tube, V gouttes (méthode à la goutte) d'une culture de 24 heures à +37° de bacille typhique en bouillon de composition déterminée (extrait Liebig 2 p. 100, peptone de Witte 2 p. 100, chlorure de sodium 1 p. 100), en laissant un intervalle d'une demi-minute entre les additions de culture microbienne dans chacun de ces tubes.

Pour apprécier l'action antibiotique de la substance, on effectue dans chaque tube, au moyen d'une anse de platine d'un diamètre inférieur à 2 mm., des prélèvements après 2 et demie, 5, 7 et demie, 10, 12 et demie et 15 minutes, que l'on ensemence dans 5 cm³ du bouillon ci-dessus.

Le contact a lieu à une température de +15° à +18° C. et les subcultures sont effectuées à l'étuve à +37° C.

Une série d'essais absolument comparables est effectuée avec une solution de phénol de concentration telle que la stérilisation des germes soit obtenue entre les temps limites de 2 minutes et demie à 15 minutes. Les dilutions sont préparées à partir d'une solution mère de phénol purifié à 5 p. 100.

On examine toutes les subcultures au bout de 48 heures. On calcule alors, aussi bien pour le désinfectant que pour le phénol, la dilution qui, incapable de tuer les germes en 5 minutes, les a tués en 7 minutes et demie. Si deux dilutions donnent le même résultat, on choisit pour le calcul la solution la plus diluée, c'est-à-dire la moins chargée en désinfectant.

On fait alors le rapport des dilutions des deux substances ayant donné le résultat précis et on obtient ainsi :

dilution du désinfectant

dilution du phénol

ce qui représente le coefficient phénol du désinfectant essayé.

B. — Modifications apportées à la méthode de Rideal et Walker

Presque dès son apparition, le Rideal Walker Test a été l'objet de nombreuses critiques portant à peu près sur toutes les phases de l'essai. On peut grouper ces critiques sous les chefs suivants :

- 1° Espèce bactérienne choisie comme témoin ;
- 2° Composition du milieu de contact et influence des matières organiques ;
- 3° Durée du contact ;
- 4° Température de l'essai et température des subcultures ;
- 5° Milieu de subculture et quantité du mélange antiseptique-germes à transporter dans la subculture ;
- 6° Calcul du coefficient phénol.

L'étude de ces différents facteurs a amené un certain nombre d'auteurs à modifier plus ou moins la technique originale du Rideal Walker Test et c'est ainsi que sont apparues les cinq modifications principales, que nous allons rencontrer au cours de cet exposé :

Modification de Miss Chick et C. J. Martin (211) ;

Modification proposée par la commission du journal *The Lancet* (371) d'après les résultats des expériences de Woodhead et Ponder (570) ;

Modification de l'Hygienic Laboratory, proposée par Anderson et Mc Clintic (158), adoptée officiellement en Amérique ;

Modification de Reddish (451) ;

Modification de G. Leonard et E. Heacok (383-384).

Nous allons voir rapidement comment ces différentes modifications ont cherché à tenir compte des objections faites à la technique originale de Rideal et Walker.

1° *Espèce bactérienne choisie comme témoin.*

Dans toutes ces techniques, la suspension des microbes est tout simplement une culture en bouillon. On mesure un volume déterminé de cette culture, que l'on ajoute à un volume donné du désinfectant. *On ignore donc le nombre exact de germes mis en expérience, aucune numération n'étant pratiquée.*

L'espèce bactérienne sur laquelle expérimentaient Rideal et Walker était le bacille typhique. C'est en effet un germe non sporulé de résistance moyenne, qui pouvait, avec raison, être choisi comme témoin.

Cette espèce fut généralement conservée comme témoin dans les techniques modifiées. A noter seulement que la commission du journal *The Lancet* a adopté le colibacille — suivant une technique complexe, qui utilise des milieux biliés, le colibacille étant résistant dans ces conditions et facile à distinguer par ses réactions propres — et que Wright (574) a lui aussi proposé d'utiliser ce microorganisme dans la technique de l'*Hygienic laboratory*, tandis que H. Schneider (503) de son côté préconisait le bacille pyocyanique.

Toutefois l'efficacité d'un même désinfectant étant très variable suivant l'espèce bactérienne considérée, dans deux des techniques citées plus haut, on a complété l'essai sur le bacille typhique par des essais sur d'autres espèces.

Il y a en effet intérêt à expérimenter chaque désinfectant sur le plus grand nombre possible d'espèces bactériennes (H. Bechhold, 166; G. Lockmann et Werner Ulrich, 400; Reichenbach, 455, etc.). Les différentes espèces bactériennes peuvent opposer à l'action d'une même substance une résistance très variable. D'autre part la spore microbienne est difficile à détruire et tel désinfectant pourra être antibio-

tique vis-à-vis de bactéries non sporulées, qui sera simplement antigénétique vis-à-vis de bactéries sporulées. Enfin un désinfectant peut montrer une véritable spécificité vis-à-vis d'une espèce particulière (H. Bechhold, 168, 169, 170 ; W. Bonde, 190,...). Aussi Reddish, dans la modification qu'il propose d'apporter à la méthode de Rideal et Walker, met-il en œuvre six espèces : bac. typhique, pneumocoque, streptocoque, hémolytique, bac. diphtérique, bac. tuberculeux, staphylocoque doré. Leonard et Heacok par contre se contentent d'adjoindre à l'essai sur le bacille typhique un essai sur le staphylocoque doré.

*2° Composition du milieu de contact
et influence des matières organiques.*

Dans la technique originale de Rideal et Walker, on ajoute V gouttes de culture en bouillon à 5 cm³ de dilution aqueuse du désinfectant. Le contact antiseptique-germes se fait donc dans un milieu contenant une certaine quantité de protéines. Les petites variations que l'on peut relever entre les différentes techniques résident seulement dans la quantité de culture en bouillon mise en œuvre.

V gouttes pour 5 cm³ (Rideal et Walker, Chick et Martin, *Lancet*) ;

0 cm³, 1 pour 5 cm³ (*Hygienic Laboratory*) ;

0 cm³, 5 pour 5 cm³ (Reddish).

Il est à remarquer qu'aucune des modifications proposées n'a eu pour objet d'opérer en l'absence de matières organiques. Pourtant l'attention fut attirée de très bonne heure sur l'influence de celles-ci dans la désinfection. C'est ainsi que Hewlett et Kenwood (312) reconnurent que l'action du phénol est fortement atténuée par la présence de matières fécales ou d'urine. Cette considération conduisit à déterminer l'action des désinfectants en présence des substances qui accompagnent les microbes dans les conditions naturelles. Les deux auteurs précités, puis Somerville et Walker (515), Winther Blyth (182), Fowler (272), Martin Hahn (299) pré-

consèrent d'ajouter à l'essai des matières fécales, de l'amidon, des protéines, de la gélatine, du lait ou de l'urine, en vue d'éprouver l'action des désinfectants dans des conditions aussi voisines que possible de celles de la pratique courante.

Cette influence des matières organiques fut particulièrement approfondie par Miss Chick et C. J. Martin, qui prescrivirent dans leur technique l'addition de matières fécales desséchées, pulvérisées et stérilisées, dans la proportion de 3 p. 100 et s'efforcèrent d'instituer une méthode de standardisation des antiseptiques dans ces conditions.

Plus récemment, E. Klarmann, A. Shternow et John von Wovern (342), revenant sur la question, ont remarqué que la diminution de l'action désinfectante par les matières organiques est variable suivant les corps envisagés. Ainsi le phénol, le m-crésol et le xylénol subissent sous cette influence un affaiblissement moins accentué que leurs dérivés halogénés et pour ceux-ci la grandeur de l'abaissement augmente avec le nombre des atomes d'halogènes, malgré le pouvoir antibactérien très élevé de ces dérivés.

Nous voyons d'après cela que dans aucune des méthodes qui viennent d'être envisagées on n'a cherché à établir la valeur des désinfectants en l'absence de toute matière étrangère en opérant par exemple sur une suspension aqueuse de germes et une solution aqueuse des produits à étudier.

3° Durée du contact.

Dans toute technique d'essai des désinfectants, le temps de contact avec les germes est toujours arbitrairement choisi. Pour que le désinfectant soit susceptible d'une utilisation pratique, il faut que son action soit suffisamment rapide. Dans le Rideal Walker Test et ses variantes, le temps de contact se trouve généralement aux environs d'un quart d'heure et ne dépasse jamais une demi-heure.

Dans le mode opératoire original, les prélèvements à transporter dans le milieu de subculture sont effectués de 2 minutes et demie en 2 minutes et demie pendant 15 minutes au maximum.

Dans le procédé *The Lancet*, on prélève de même de 2 minutes et demie en 2 minutes et demie, mais pendant un temps double : 30 minutes, ce qui a été critiqué par S. Rideal (458), qui trouve ce contact trop prolongé.

Dans la méthode de l'*Hygienic Laboratory*, on tient compte des prélèvements effectués après 2 minutes et demie et 15 minutes.

Enfin Reddish et Léonard font les prélèvements après 5, 10 et 15 minutes, mais Reddish attache une importance particulière au chiffre trouvé au bout de 10 minutes.

Seuls, Chick et Martin adoptent un prélèvement unique au bout de 30 minutes de contact. De la sorte ils maintiennent constant le facteur temps et n'ont plus à considérer qu'une variable : la dilution du désinfectant.

4° Température de l'essai.

L'action d'un désinfectant est sous l'influence de la température. Ce facteur a été fixé comme suit dans les techniques que nous examinons :

Rideal et Walker : $+15^{\circ}$ à $+18^{\circ}$ C. ;

The Lancet : $+18^{\circ}$ à $+20^{\circ}$;

Hygienic Laboratory : $+20^{\circ}$;

Reddish : $+20^{\circ}$;

Leonard : $+20^{\circ}$.

L'écart entre les diverses techniques est donc de l'ordre de 2° C.

5° Milieu de subculture.

Après le contact avec le désinfectant, les microbes sont transportés dans un milieu de subculture. Tous les auteurs cités ont adopté pour leurs épreuves de subculture, le bouillon à l'extrait de viande Liebig. Seuls les auteurs de la modification *The Lancet* emploient un bouillon additionné de sels biliaries. Etant donnée leur technique spéciale, les essais se

faisant en tubes ouverts, ces sels biliaires étaient destinés à jouer le rôle d'antiseptiques vis-à-vis d'une contamination éventuelle par les germes de l'air, tandis qu'ils ont moins d'action sur le colibacille.

Au point de vue de la réaction de ce milieu nutritif, Moore (419) prescrit le pH 7,6 et Reddish le pH 6,8.

Il y a lieu de tenir compte en outre de la quantité du mélange désinfectant-germes qui va se trouver transportée dans ce milieu de subculture. Ces quantités ont été fixées comme suit, pour 5 cm³ de bouillon, dans le Rideal Walker Test et ses variantes :

Une anse de platine de 2 mm. de diamètre (Rideal et Walker) ;

Une anse de platine de 4 mm. de diamètre (*Hygienic Laboratory*) ;

Un cuilleron de platine de 0 cm³, 08 de capacité (*The Lancet*).

Il est à remarquer que dans aucune de ces techniques on ne s'est soucié de l'action exercée par la petite quantité de désinfectant transportée dans le milieu de subculture. Pourtant le fait avait été pressenti depuis longtemps. C'est pour y obvier que les auteurs allemands (R. Koch, Paul et Krönig) avaient abandonné la méthode des suspensions et imaginé celle des « porte-germes ». C'est encore un auteur allemand, H. Schneider, qui montra l'influence du pouvoir antigénétique dans la méthode des coefficients phénol. Il n'empêche que les auteurs anglo-saxons ont systématiquement négligé cette cause d'erreur.

6° Calcul du coefficient phénol.

Etant données les différences des temps de contact, le calcul du coefficient phénol est lui-même très variable selon les méthodes.

Les auteurs l'établissent ainsi :

Rapport des deux plus fortes dilutions qui tuent les germes en 7 minutes et demie (Rideal et Walker) ;

Rapport des plus fortes dilutions des deux antiseptiques

qui tuent les germes en 2 minutes et demie et 30 minutes : moyenne des deux résultats (*The Lancet*) ;

Rapport des deux plus fortes dilutions des deux antiseptiques qui tuent les germes en 2 minutes et 30 minutes : moyenne des deux résultats (*Hygienic Laboratory*) ;

Rapport des deux plus fortes dilutions des deux antiseptiques qui tuent les germes en 10 minutes (Reddish).

D'autre part Wright (574), tout en se ralliant à la technique de l'*Hygienic Laboratory*, était d'avis de faire le calcul selon Rideal et Walker.

Il nous importe peu d'ailleurs, car ces méthodes du coefficient phénol, qui ont été étudiées avec tant de minutie, ne résistent pas à un certain nombre de critiques des plus graves.

C. — Critique des méthodes du « Coefficient Phénol »

Toutes ces méthodes, tendant à établir le pouvoir antiseptique des désinfectants en valeurs relatives, ont eu évidemment pour but de neutraliser les variations expérimentales en effectuant deux essais simultanés. Elles ne peuvent prétendre avoir satisfait à cette condition. En effet, qu'il s'agisse de l'influence de la température, du temps de contact, de la variation dans le nombre des germes ou dans leur qualité, deux antiseptiques différents ne réagiront pas forcément de la même façon, ne donneront pas forcément des variations parallèles ou dans le même sens.

En outre ces méthodes ne sauraient être générales pour tous les antiseptiques. On ne saurait comparer à coup sûr, comme G. Leonard l'a reconnu, des sels de métaux lourds avec le phénol, par exemple. C'est pourquoi Lockmann (394), reprenant une idée de Novy (435), proposait de diviser les désinfectants en plusieurs groupes chimiques et de choisir

pour chacun de ces groupes un représentant dont l'activité serait prise pour unité.

Ces méthodes ne peuvent être générales par ailleurs si l'on considère les espèces microbiennes dans leur ensemble, car les résultats obtenus ne sont valables, comme dans toute méthode d'essai, que pour le germe mis en expérience.

Enfin les deux principales critiques que l'on puisse formuler contre elles sont les suivantes :

1° *Le nombre des germes mis en expérience est totalement inconnu ;*

2° *Surtout : elles ne mettent nullement à l'abri de la cause d'erreur relevant du facteur antigénétique.*

C'est pourquoi ces méthodes donnant des résultats en valeurs relatives ne sauraient nous satisfaire.

Nous avons donc dû nous rallier au second groupe de méthodes donnant des résultats en valeur en quelque sorte absolues.

II. — METHODES D'ESSAI DES DESINFECTANTS DONNANT DES RESULTATS EN VALEUR ABSOLUE

Certains auteurs (Guéguen, 289 ; Perry Morgan, 439 ; Emery, 255, 279 ; Dakin et Dunham, 234 ; Vincent, 549 ; Nicolle et Jouan, 433 ; Tilley, 526 ; Scott et Hill, 512 ; Delcourt-Bernard, 238 ; Poetschke, 441 ; Walker, 558) avaient déjà cherché à exprimer en valeurs absolues les résultats donnés par la méthode des suspensions. Les procédés qu'ils ont proposés, insuffisamment étudiés et d'ailleurs destinés à des buts très spéciaux, sont passibles de nombreuses critiques.

C'est néanmoins au principe qui est à la base de ces méthodes, que s'est ralliée S. Lambin après en avoir étudié avec

une grande précision les différents facteurs (désinfectant, microbes, milieu où a lieu le contact, temps de contact, température). Cet auteur a ainsi mis au point deux techniques, qui sont à l'abri des causes d'erreur relevées dans toutes les méthodes antérieures.

Dans la première, on évalue la dose antibiotique en transportant directement dans le milieu de subculture, après un temps de contact déterminé, une petite quantité du mélange antiseptique-germes et on détermine parallèlement la dose antigénétique. On peut ainsi, en comparant la quantité d'antiseptique transportée dans la subculture à la dose antigénétique, apprécier la validité de l'essai : *technique dite « directe »*.

Dans la seconde, on détermine la dose antibiotique en repiquant dans le milieu de subculture la presque totalité des germes mis en contact avec le désinfectant, après les avoir au préalable débarrassés de toute trace de désinfectant par lavage et centrifugation : *technique dite « par centrifugation »*.

Ces sont ces deux techniques que nous avons utilisées dans nos propres essais et que nous allons exposer maintenant.

Nous commencerons par donner :

- a) La composition et la préparation des milieux de culture ;
 - b) Les conditions de la culture des germes ;
 - c) La préparation des suspensions microbiennes ;
 - d) Le procédé appliqué pour la numération des germes ;
- ces opérations préliminaires étant communes aux deux méthodes.

Nous rapporterons ensuite les opérations concernant la partie centrale de ces essais.

a) PRÉPARATION DES MILIEUX DE CULTURE

Les milieux de culture utilisés dans une même série d'essais doivent être aussi semblables que possible. On en préparera donc chaque fois un stock important permettant d'effectuer un grand nombre d'expériences successives.

Les milieux, dont nous nous sommes servi, sont : le bouillon peptoné et salé simple (pour les essais antibiotiques) ou à double concentration (pour les essais antigénétiques), le bouillon gélosé et le bouillon gélatiné (pour la culture des germes et la conservation des souches).

Bouillon peptoné et salé simple.

500 g. de viande de bœuf dégraissée sont passés au hachoir et mis à macérer aussitôt dans un litre d'eau distillée à la température du laboratoire en agitant de temps à autre pendant 24 heures. On exprime le lendemain et l'ensemble du liquide est porté à l'ébullition pendant deux à trois minutes pour coaguler les protéines, en agitant continuellement. On filtre ensuite sur un filtre mouillé pour éliminer les graisses. On fait dissoudre dans le liquide 20 g. de peptone de Witte et 5 g. de chlorure de sodium. On complète avec de l'eau distillée au volume de 1.000 cm³. On ajuste le liquide refroidi à pH 7 au moyen de soude diluée, en employant la méthode colorimétrique de Clark et Lubbs (216) et les gammes étalons inaltérables proposées par P. Bruère (195-196). Le bouillon est soumis à ce moment à une première stérilisation à +120° pendant 15 minutes, ce qui a pour effet de précipiter les sels terreux. La préparation se termine en filtrant sur un filtre ébouillanté et en stérilisant une seconde fois durant 20 minutes à +115°, après avoir à nouveau vérifié la réaction.

Il convient naturellement de n'employer pour cette préparation que des récipients incapables de céder au bouillon des substances à action antiseptique (capsules de porcelaine, récipients émaillés de bonne qualité, vases en verre Pyrex).

Pour les essais antibiotiques (épreuve de survie), on répartit en tubes Pyrex à raison de 5 cm³ par tube, on bouche au

coton cardé et l'on stérilise une dernière fois pendant 20 minutes à $+115^{\circ}$.

Bouillon peptoné et salé à double concentration.

Ce bouillon à double concentration sert pour la détermination de la dose antigénétique. Il est préparé à concentration double, car, au cours de l'essai, comme nous le verrons, il sera mélangé de volumes déterminés de solution désinfectante et d'émulsion microbienne, puis ramené à la concentration normale par addition de quantité suffisante d'eau distillée. Il présente la composition suivante :

Viande de bœuf dégraissée et hachée	1.000 g.
Peptone de Witte	40 g.
Chlorure de sodium	10 g.
Eau distillée	1.000 g.

Le mode de préparation est le même que pour le bouillon simple.

Bouillon gélosé.

20 g. de gélose sèche, de bonne qualité, sont mis à macérer dans l'eau distillée pendant une heure environ. Quand la gélose est bien gonflée, on l'exprime fortement et on l'introduit dans un litre de bouillon peptoné et salé simple. On chauffe à $+80-85^{\circ}$ jusqu'à dissolution. On vérifie, après léger refroidissement, la réaction et on ajuste à pH 7, si besoin. On porte à $+120^{\circ}$ pendant 45 minutes et on filtre à chaud dans l'autoclave ouvert. Le liquide filtré est réparti en tubes à essais (ou en boîtes de Pétri, selon les besoins), que l'on stérilise ensuite pendant 20 minutes à $+115^{\circ}$. Les tubes sont inclinés pendant le refroidissement, capuchonnés après solidification de la gélose et conservés dans un endroit frais.

Bouillon gélatiné.

Il est obtenu en ajoutant 12 p. 100 de gélatine au bouillon peptoné et salé simple. On opère comme pour le bouillon gélosé, mais on stérilise à température légèrement inférieure ($+115^{\circ}$ pour la première stérilisation, $+110^{\circ}$ pour la seconde).

b) CONDITIONS DE LA CULTURE DES GERMES

Nos expériences ont porté sur deux espèces : d'une part sur le *Staphylococcus pyogenes aureus*, d'autre part sur un microbe sporulé : le *Bacillus subtilis*.

A la vérité, l'action d'un désinfectant pouvant être très variable vis-à-vis des différentes espèces microbiennes, il serait nécessaire, pour se faire une idée exacte de la valeur d'un produit, de l'essayer sur un nombre suffisamment grand d'espèces, sporulées ou non.

Toutefois les corps que nous avons étudiés, présentant les difficultés de mise en œuvre que nous verrons plus loin, nous nous en sommes tenu, pour cette série d'expériences, aux deux espèces ci-dessus nommées.

Il faut également prendre en considération les variations de la résistance naturelle des germes, ainsi que les résistances acquises au cours de la conservation selon les conditions plus ou moins favorables réalisées par les milieux de culture employés. C'est ainsi, par exemple, que les souches conservées au laboratoire semblent posséder une plus grande régularité de résistance que les souches récemment isolées, parce qu'elles sont accoutumées au milieu de culture. De ces considérations ressort la nécessité, déjà rappelée, d'utiliser toujours les mêmes milieux et de conserver les souches à une température peu élevée et constante.

Pour ce qui est de l'âge de la culture à mettre en expérience, les travaux de J. Régnier et A. Kaplan (327, 452) ont montré que la plus grande vitalité se trouvait chez les germes isolés à la cinquième heure. Néanmoins, après essais comparatifs, S. Lambin préfère, pour l'essai des désinfectants, employer une culture de 24 heures.

La souche de *Staphylococcus pyogenes aureus*, de laquelle nous sommes parti, provenait de la collection de la Faculté de Pharmacie. Après avoir étéensemencés sur gélose et maintenus 24 heures à $+37^{\circ}$, les germes, provenant de cette

souche initiale, ont été repiqués sur bouillon gélatiné, cultivés pendant 24 heures à $+37^{\circ}$ et conservés à la température de la cave. Trois jours avant l'essai, cette souche était placée à $+37^{\circ}$, puis réensemencée journellement pendant trois jours sur bouillon gélosé incliné. La dernière de ces trois cultures de 24 heures était utilisée pour l'essai.

Quant au *Bacillus subtilis*, les souches étaient conservées sur bouillon gélosé dans un endroit frais et, tous les mois, on les repiquait sur ce milieu. Pour obtenir des suspensions contenant un nombre suffisamment élevé de spores, les cultures étaient préparées sur des plaques de gélose, coulées en boîtes de Pétri. Dans les expériences en série, on ensemait sur chaque plaque 1 cm³ d'une émulsion, obtenue le jour même, que l'on étalait sur toute la surface de la gélose au moyen d'un fil de platine flambé. Les boîtes de Pétri, enveloppées dans deux doubles de papier filtre, étaient maintenues pendant cinq jours à $+37^{\circ}$, afin d'assurer la sporulation du plus grand nombre possible de germes.

c) PRÉPARATION DES SUSPENSIONS MICROBIENNES

Pour éviter l'influence que pourrait exercer sur les résultats des essais l'emploi de milieux contenant des sels ou des matières organiques et obtenir l'action du désinfectant aussi pure que possible, on emploie l'eau distillée dans la préparation de l'émulsion microbienne titrée. Vu le temps relativement court qui s'écoule entre la préparation de la suspension et son utilisation, l'eau ne peut exercer une action trop nocive sur les germes. On se sert d'ailleurs d'une eau tri-distillée, la deuxième distillation étant effectuée sur un peu d'acide phosphorique et la troisième sur un peu de baryte.

La préparation de l'émulsion doit être faite au dernier moment, immédiatement avant l'essai, afin que le séjour des germes dans l'eau soit aussi court que possible. En outre cette préparation, ainsi que, plus tard, le contact des germes avec le désinfectant, doivent être effectués à la température de $+18-20^{\circ}$.

Voici la technique détaillée :

On utilise des fioles d'Erlenmeyer en verre Pyrex, contenant la quantité voulue d'eau tridistillée, exactement mesurée, et quelques billes de verre lisses en quantité suffisante pour recouvrir le fond de la fiole. Le tout est stérilisé pendant 20 minutes à $+120^{\circ}$. Dans cette eau on émulsionne les germes prélevés sur des cultures sur gélose âgées de 24 heures et entretenus de la façon décrite plus haut. On prend soin d'effectuer le prélèvement avec une anse de platine flambée et suffisamment refroidie et on fait en sorte de ne pas entraîner de gélose. Les germes ainsi prélevés sont alors émulsionnés progressivement : tout d'abord on les étale sur les parois de la fiole d'Erlenmeyer, dans une petite goutte d'eau, puis on entraîne peu à peu dans l'eau distillée, où une vigoureuse agitation circulaire achève, grâce à la présence des billes de verre, de donner une répartition uniforme. Il convient de vérifier qu'aucun amas n'existe dans cette émulsion : sinon il faudrait recommencer l'agitation du récipient ou procéder à une filtration sur coton ou même sur filtre de papier peu épais.

Cette dernière observation s'applique plus spécialement à la préparation des émulsions de *Bacillus subtilis*, une agitation énergique et prolongée étant indispensable pour assurer la dilacération parfaite des fragments de voiles microbiens raclés sur les plaques de gélose avec l'anse de platine.

Il est à remarquer pour terminer qu'il convient d'agiter vigoureusement l'émulsion obtenue pendant plusieurs minutes, lorsque l'on effectue les prélèvements destinés à la numération des germes et à la préparation de l'émulsion finale titrée, et qu'il faut, évidemment, n'utiliser pour ces prélèvements que des pipettes stériles, absolument sèches.

d) MÉTHODE UTILISÉE POUR LA NUMÉRATION DES GERMES

Les diverses techniques proposées pour la numération des germes ont été soumises à une étude critique par R. David

(236) dans son travail concernant la multiplication du bacille pyocyanique dans différents milieux de culture. Entre les méthodes décrites dans ce travail, nous avons choisi la méthode de Wright (573), modifiée par Fries (277).

Elle consiste en principe à mélanger un certain volume de suspension titrée de levure à un volume également connu de suspension microbienne, à étaler sur plusieurs lames une goutte de ce mélange, à colorer et à compter sur chaque lame la proportion relative des deux éléments.

L'émulsion de levure est obtenue en délayant soigneusement au mortier 1 gramme de levure dans 60 cm³ d'eau employée en plusieurs fois. On décante dans une fiole d'Erlenmeyer stérile, garnie de billes de verre, et l'on assure une répartition homogène par agitation prolongée. Pour titrer cette suspension, on en fait une dilution au cinquantième et l'on compte les éléments de levure à l'hématimètre de Malassez sur une goutte de cette dilution. Le titre trouvé pour l'émulsion non diluée doit être de 200 à 250 millions d'éléments par cm³.

Cette émulsion de levure peut être conservée à la glacière, après addition d'un centimètre cube de chloroforme ; elle doit être renouvelée tous les dix jours environ.

Pour la numération de l'émulsion microbienne, on en prélève 0 cm³, 2 que l'on mélange, dans un tube à essais contenant quelques perles de verre, avec 2 cm³ de suspension de levure. On prépare plusieurs lames en étalant soigneusement 1 goutte de ce mélange sur chacune d'elles, fixant à l'alcool-éther après dessiccation à froid et colorant avec une dilution aqueuse de fuchsine de Ziehl à 10 p. 100.

On compte alors, dans une quinzaine de champs pris au hasard sur chacune des trois meilleures lames et en les parcourant sur toute leur largeur, le nombre des cellules de levure et le nombre des bactéries et l'on fait la moyenne des nombres obtenus.

On obtient le nombre de bactéries existant dans l'émulsion en appliquant la formule générale :

$$X = \frac{\text{volume levures}}{\text{volume bactéries}} \times \frac{\text{somme bactéries}}{\text{somme levures}} \times K$$

X étant le titre cherché de la suspension microbienne en millions par centimètre cube et K le titre de la suspension de levure en millions par centimètre cube.

Connaissant le titre de la suspension microbienne, il est facile de calculer le volume que l'on doit utiliser pour réaliser la concentration en germes nécessaire aux essais envisagés.

Pour le *bacillus subtilis*, nous avons compté les spores à l'exclusion des bâtonnets. La numération présentait ici une plus grande incertitude en raison de la difficulté de coloration des spores, de leur tendance à rester groupées en amas et du grand nombre d'éléments figurant dans chaque champ.

Nous venons de résumer les opérations préliminaires communes aux deux méthodes. Nous allons maintenant rappeler les conditions requises pour leur exécution en commençant par la méthode dite « directe ».

A. — Détermination de la valeur antibiotique d'un désinfectant par la méthode directe

Cette méthode, avons-nous dit, comporte deux essais : un essai antigénétique et un essai antibiotique. L'essai antigénétique étant le plus simple des deux, c'est par lui que nous commencerons. Nous donnerons ensuite la marche de l'essai antibiotique.

*Définition du POUVOIR antigénétique
et du POUVOIR antibiotique.*

Les résultats des expériences, conduites d'après les techniques que nous allons décrire, nous fourniront les *doses antigénétiques* et les *doses antibiotiques* des corps étudiés, telles que nous les avons définies. Il semblerait, à première vue, que le simple examen de ces doses puisse donner une idée suffisante de l'activité antimicrobienne. Cela est exact. On remarquera toutefois qu'avec cette notation les corps les plus actifs seront caractérisés par les doses les plus faibles. Aussi, pour éviter toute erreur d'interprétation, est-il préférable de représenter le *pouvoir antigénétique* et le *pouvoir antibiotique* par l'inverse des doses correspondantes. X étant la *dose antigénétique* ou *antibiotique*, $1/X$ exprimera l'activité de la substance ou son *pouvoir antigénétique* ou *antibiotique*.

D'après cette définition, on voit donc que le *pouvoir antigénétique* ou le *pouvoir antibiotique* d'une substance varient en raison inverse de la *dose antigénétique* ou de la *dose antibiotique*. Ces *pouvoirs* seront d'autant plus grands que les *doses* correspondantes seront elles-mêmes plus faibles.

a) CONDITIONS DE L'ESSAI ANTIGÉNÉTIQUE

Dans dix tubes contenant chacun 5 cm³ de bouillon peptoné et salé à concentration double et stérilisés au préalable, on introduit aseptiquement un volume de suspension titrée de microbes tel que la quantité de germes ou de spores en expérience soit de 10.000.000 par centimètre cube de mélange total (soit 1 cm³ de suspension à 1.000.000.000 de germes par centimètre cube pour les 10 cm³ contenus finalement dans chaque tube).

Ce nombre de 10.000.000 par centimètre cube a été choisi dans le but de satisfaire à deux exigences importantes :

1° Il est suffisamment élevé pour comprendre quelques-uns des germes les plus résistants présents dans la souche originelle ;

2° Il représente le $1/50$ des 500.000.000 de germes, qui doivent être ensemencés dans la subculture terminant l'essai antibiotique, ce qui permet la comparaison des deux essais, comme nous le verrons plus loin.

Aussitôt après l'introduction des germes, on mesure dans chaque tube des quantités croissantes de solution antiseptique et l'on complète le volume à 10 cm³ avec de l'eau distillée stérile. Le bouillon double se trouve ainsi ramené à la concentration ordinaire. Un tube témoin permet de s'assurer du développement des germes en l'absence d'antiseptique.

On abandonne les tubes pendant quinze jours à la température de +18-20° après les avoir capuchonnés, et au bout de ce temps, on les place pendant cinq jours à l'étuve à +37°. Le vingtième jour on note les doses d'antiseptique contenues d'une part dans le dernier tube ayant poussé et d'autre part dans le premier tube n'ayant pas poussé. On prend la moyenne des deux nombres et l'on rapporte au litre. La valeur trouvée est considérée comme la *dose antigénétique* de la substance essayée. On prend l'inverse de cette valeur pour avoir le *pouvoir antigénétique*.

b) CONDITIONS DE L'ESSAI ANTIBIOTIQUE DANS LA MÉTHODE DIRECTE

La mesure de la valeur antibiotique consiste à déterminer la plus faible quantité de désinfectant *capable de tuer* en un temps donné une quantité connue de germes placés dans un milieu déterminé.

Cet essai est plus complexe que l'essai antigénétique. Il convient notamment de ne pas perdre de vue un certain nombre de considérations, que nous allons rappeler d'abord pour éclairer les conditions de la technique décrite ci-dessous.

Nombre de germes à mettre en expérience.

On traitera donc un nombre connu de germes par des quantités croissantes de la substance désinfectante. Ce nombre de germes a été fixé à 500.000.000 par centimètre cube. Il se trouve ainsi suffisamment grand pour atténuer les variations de la dose antibiotique avec la quantité de germes mise en œuvre ou avec le désinfectant essayé et pour comprendre, d'autre part, un certain nombre de représentants des formes susceptibles de présenter une résistance accrue soit avant, soit après le contact avec ce désinfectant.

Temps de contact.

Le temps de contact généralement adopté est de quinze minutes. Dans nos essais nous avons dû augmenter la durée du contact jusqu'à une heure, les corps que nous avons étudiés s'étant montrés d'un faible pouvoir antibiotique.

Quantités de germes à transporter dans la subculture.

Il s'agit ensuite de vérifier si tous les germes traités ont bien été tués pendant le temps de contact adopté. Pour cela on transportera une quantité convenable de ces germes dans un milieu de culture propre à leur développement (milieu de subculture).

Mais il faut tenir compte ici d'un fait extrêmement important. En même temps que l'on transporte dans le milieu de subculture les germes ayant subi le contact avec le désinfectant, on y introduit également une petite quantité de ce désinfectant, dont l'action antigénétique pourra gêner et même être suffisante pour empêcher complètement le développement de germes déjà affaiblis dans leur vitalité. Ce facteur, qui avait été négligé ou sous-estimé par la plupart des auteurs ayant proposé des méthodes d'essai des antiseptiques (tel est le cas notamment des méthodes dites du coefficient phénol) exerce au contraire, dans la détermina-

tion de la dose antibiotique, une influence capitale, surtout pour les substances possédant un fort pouvoir antigénétique en même temps qu'un faible pouvoir antibiotique.

Il y a donc lieu d'avoir l'attention particulièrement fixée sur ce point et d'observer strictement des conditions très précises pour pouvoir obvier à cette cause d'erreur et accorder une valeur incontestable aux résultats fournis par la méthode « directe » de détermination des doses antibiotiques. On tiendra compte de la quantité d'antiseptique transportée dans le milieu de subculture. Afin d'établir le rapport entre cette quantité transportée et la dose antigénétique, on réalisera dans l'essai antigénétique et dans l'essai de survie après contact avec le désinfectant, les mêmes conditions de milieu, de température et de concentration en germes. Ainsi les deux essais seront comparables et l'on pourra tirer une appréciation valable des résultats obtenus.

D'après cela, la quantité de liquide à prélever dans le milieu où a eu lieu le contact avec le désinfectant et qui doit être introduite dans le milieu de subculture doit satisfaire à deux exigences contradictoires :

Il y a intérêt en effet à transporter d'une part le plus grand nombre possible de germes, mais d'autre part la plus petite quantité possible d'antiseptique.

Pratiquement on transportera un dixième de centimètre cube du mélange antiseptique-germes, soit 50.000.000 de germes pour les 5 cm³ de bouillon de subculture. Ce nombre représente une quantité de 10.000.000 de germes par centimètre cube, soit un nombre égal à la concentration réalisée dans l'essai antigénétique et le cinquantième de la quantité de germes existant par centimètre cube dans le mélange antiseptique-germes de l'essai antibiotique.

Evaluation de la validité de l'essai.

Ayant d'une part réalisé dans les subcultures des condi-

tions semblables à celles de l'essai antigénétique et connaissant d'autre part la quantité d'antiseptique transportée dans le milieu de subculture, on établira le rapport

quantité transportée

dose antigénétique

et, suivant la valeur de ce rapport, on verra si les propriétés antigénétiques du corps essayé ont pu influencer la détermination du pouvoir antibiotique.

Il subsiste toutefois une inconnue dans cette comparaison : elle réside dans la différence de vitalité qui existe entre les germes traités par l'antiseptique (essai antibiotique) et les germes normaux (essai antigénétique). Toutefois, si les quantités d'antiseptique transportées ne représentent que des valeurs très inférieures aux doses antigénétiques, on doit pouvoir conclure en toute certitude à la complète innocuité de la quantité d'antiseptique introduite dans la subculture.

Ces considérations générales ayant été rappelées, voici la technique à appliquer dans la méthode « directe » de détermination des doses antibiotiques.

c) CONDUITE DE L'ESSAI ANTIBIOTIQUE

On a tout d'abord préparé, comme il est dit plus haut, une suspension de germes au titre de 5.000.000.000 par centimètre cube.

Ayant disposé dix tubes stériles, on introduit dans chacun, aseptiquement, les quantités préalablement calculées d'eau distillée stérile et de solution antiseptique nécessaires pour avoir, après addition de la suspension microbienne, un volume total de 10 cm³. On mélange soigneusement par agitation et on ajoute dans chaque tube 1 cm³ de suspension microbienne. On mélange.

Quinze minutes (dans nos essais une heure) après l'introduction des germes dans le tube n° 1, on prélève dans cha-

que tube, à l'aide de pipettes stériles, $1/10$ de cm^3 du mélange que l'on ensemence dans 5 cm^3 de bouillon de culture.

Les tubes de subculture sont placés à l'étuve à $+37^\circ$, jusqu'à ce que le nombre des tubes dans lesquels se développent les germes reste constant. Ce résultat est généralement atteint après trois à quatre jours.

On note alors la dose de substance contenue dans le dernier tube de la série, dont la subculture a été positive ; on note également la dose de substance contenue dans le tube suivant, c'est-à-dire dans le premier tube de la série dont la subculture a été négative. La moyenne de ces deux nombres rapportée au litre d'eau distillée est considérée comme la *dose antibiotique* de la substance. L'inverse de cette dose représente le *pouvoir antibiotique*.

Pour compléter cet exposé sommaire, nous allons maintenant décrire en détail une de nos expériences.

d) DÉTAIL D'UNE EXPÉRIENCE

Détermination de l'activité antimicrobienne de l'acide 5-chlorosalicylique par la méthode « directe ».

Soit à déterminer le pouvoir antigénétique et le pouvoir antibiotique de l'acide 5-chlorosalicylique vis-à-vis du staphylocoque doré.

On a d'abord préparé une suspension de staphylocoques contenant 5.000.000.000 de germes par centimètre cube pour l'essai antibiotique et, avec de l'eau distillée stérile, une dilution au cinquième de cette suspension, c'est-à-dire contenant 1.000.000.000 de germes par centimètre cube, qui servira pour l'essai antigénétique.

D'autre part, on a fait dissoudre 10 g. d'acide 5-chlorosalicylique au moyen de 58 cm^3 de solution normale de soude (théorie : 57 cm^3 95 ; une molécule de soude pour une molécule d'acide) et l'on a complété le volume à 100 cm^3 avec

de l'eau distillée dans un vase jaugé. Cette solution servira telle quelle pour l'essai antibiotique. Pour l'essai antigénétique, on en fait une dilution au cinquième, soit à 2 p. 100 d'acide 5-chlorosalicylique.

*Détermination de la dose antigénétique
de l'acide 5-chlorosalicylique.*

On dispose 10 tubes numérotés, contenant déjà 5 cm³ de bouillon à double concentration et trois ou quatre perles de verre. On y introduit successivement avec les précautions usuelles d'asepsie les quantités convenables (en cm³) de suspension microbienne, de solution antiseptique et d'eau distillée stérile, de manière à constituer les mélanges suivants :

Tubes n°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Bouillon double	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Staphylocoques										
1.000.000.000 p. cm ³	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Acide 5-chlorosalicylique										
à 2 p. 100	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	4,9
Eau distillée	4,4	3,9	3,4	2,9	2,4	1,9	1,4	0,9	0,4	0
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

La substance n'étant pas volatile, les tubes ensemencés sont portés directement à l'étuve à +37° et on les observe tous les jours. Voici les résultats obtenus :

Après 48 heures	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Après 5 jours	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—
Après 20 jours	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—

La dose antigénétique de l'acide 5-chlorosalicylique en solution sodique est donc comprise entre 250 cm³ et 300 cm³ de solution de cet acide à 2 p. 100 pour un litre de bouillon peptoné et salé simple, soit entre 5 g. et 6 g.: moyenne 5 g., 50 par litre.

*Détermination de la dose antibiotique
de l'acide 5-chlorosalicylique.*

On dispose 9 tubes contenant chacun quelques perles de verre et préalablement stérilisés. On y introduit avec les précautions d'usage, les quantités calculées (en cm³) d'eau distillée stérile, de solution d'acide 5-chlorosalicylique à 10 p. 100 et de suspension bactérienne, de manière à constituer les mélanges suivants :

Tubes n ^{os}	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Eau distillée	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Acide 5-chlorosalicylique à 10 p. 100	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Staphylocoques 5.000.000.000 p. cm ³ .	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	10	10	10	10	10	10	10	10	10

On mélange et laisse en contact pendant une heure. Ensuite de quoi on prélève, dans chaque tube 0 cm³, 1 du mélange, que l'on introduit dans 5 cm³ de bouillon peptoné et salé simple. Les tubes de bouillon ensemencés sont portés à l'étuve à +37° et on les observe tous les jours. Voici les résultats obtenus :

Tubes de subculture n ^{os} . .	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Après 24 heures	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Après 48 heures	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Après 10 jours	+	+	+	+	—	—	—	—	—

Le nombre de centimètres cubes de solution d'acide 5-chlorosalicylique à 10 p. 100, qui doit être introduit dans le volume total de 10 cm³ pour tuer le staphylocoque en une heure est compris entre 4 et 5. La dose antibiotique de l'acide 5-chlorosalicylique vis-à-vis du staphylocoque est donc égale à **45 g. par litre.**

Il est indispensable maintenant d'apprécier la validité des résultats fournis par l'essai ainsi pratiqué.

Calculons la quantité d'antiseptique transportée dans un litre de bouillon de subculture par l'addition à 5 cm³ de celui-ci de 1/10 de cm³ du mélange antiseptique-germes. On voit que cette quantité est égale au cinquantième de la dose antibiotique, soit $45 : 50 = 0 \text{ g., } 90$. La dose antigénétique étant de 5 g., 50 par litre, si nous calculons la valeur du rapport

$$\frac{\text{quantité transportée}}{\text{dose antigénétique}}$$

nous trouvons 1/6,134.

Ce rapport est manifestement beaucoup trop élevé. L'acide 5-chlorosalicylique transporté en même temps que les germes a certainement gêné leur développement dans la subculture faussant ainsi la valeur de la dose antibiotique.

Cet exemple met bien en lumière l'influence perturbatrice du facteur antigénétique dans l'essai des désinfectants, principalement, comme c'est le cas pour les corps que nous avons étudiés, quand le pouvoir antigénétique est beaucoup plus grand que le pouvoir antibiotique.

C'est pourquoi nous avons dû reprendre tous nos essais par la *méthode par centrifugation* dans laquelle le facteur antigénétique est complètement éliminé.

B. — Détermination de la valeur antibiotique d'un désinfectant par la méthode par centrifugation

Cette seconde méthode est établie sur les mêmes bases que la première et elle n'en diffère que par le point suivant : après action du désinfectant, les germes traités, au lieu d'être directement réensemencés dans un milieu de subculture, sont séparés du milieu d'essai par centrifugation. On les lave ensuite plusieurs fois à l'eau distillée stérile, en les séparant chaque fois par centrifugation, et on les introduit finalement dans le milieu de subculture.

a) CONDUITE DE L'ESSAI

Les solutions désinfectantes et une suspension microbienne de titre connu ayant été préparées, on dispose quatre tubes à centrifuger, stérilisés, bouchés au coton. On introduit dans chacun, à l'aide de pipettes stériles, les quantités préalablement calculées d'eau distillée, de solution désinfectante, et, après mélange, de suspension microbienne nécessaires pour obtenir un volume total de 5 cm³ et une concentration en germes de 500 millions par centimètre cube. On agite le mélange avec précaution, afin de bien répartir les germes ; on remplace, avec toutes les précautions d'asepsie, les bouchons de coton par des capuchons d'aluminium stérilisés, puis on laisse au repos. Cinq minutes exactement après addition des germes dans le dernier tube, on procède à une première centrifugation d'une durée totale de dix minutes exactement. (Nous verrons tout à l'heure que pour les raisons déjà indiquées à propos de nos essais par la méthode directe, nous avons dû porter la durée du contact avec cette technique à 24 heures). Les germes doivent alors être nettement séparés et le liquide surnageant doit être limpide. Ce liquide est alors décanté et remplacé par 10 cm³ d'eau distillée stérile, dans laquelle les germes sont mis en suspension. On les sépare alors de nouveau par centrifugation (durant une demi-heure), puis on remet le culot en suspension dans 10 cm³ d'eau distillée stérile, on centrifuge de nouveau (durant une demi-heure) et on recommence une autre fois cette opération. Sur les germes isolés par cette dernière centrifugation et débarrassés du désinfectant, on ajoute alors 5 cm³ de bouillon de subculture, puis on porte les tubes à +37°, où on les laisse séjourner au moins quatre jours avant de noter les résultats.

La concentration des germes dans les subcultures étant très forte, il faut bien veiller à ne pas considérer comme des cultures positives les bouillons de subculture dans lesquels les germes morts sont encore en suspension. Afin d'éviter

toute erreur d'interprétation, il convient d'effectuer pour chaque bouillon de subculture que l'on croit avoir cultivé, un repiquage sur gélose inclinée.

Il est bien évident que ce mode opératoire est beaucoup plus délicat que celui qui est utilisé dans la méthode directe. Il faut une certaine habitude de cette technique pour la mener à bien ; il faut notamment prendre de grandes précautions d'asepsie et de stérilisation pour éviter l'introduction, dans les cultures, des germes de l'air.

b) DÉTAIL D'UNE EXPÉRIENCE

Détermination de la dose antibiotique de l'acide 5-chlorosalicylique par la méthode par centrifugation.

Après plusieurs tâtonnements ayant permis de resserrer les valeurs entre lesquelles se tient la dose antibiotique pour un temps de contact donné, qu'il a fallu porter à 24 heures, on a disposé l'expérience comme suit.

On a introduit dans quatre tubes à centrifuger (en cm³) :

Tubes n ^{os}	1	2	3	4
Eau distillée	2,5	1,5	0,5	0
Staphylocoques 5.000.000.000 p. cm ³	0,5	0,5	0,5	0,5
Acide 5-chlorosalicylique 10 p. 100 (dans la soude)	2	3	4	5
Volume total	5	5	5	5,5
Résultats des subcultures	+	+	—	—

Le nombre de centimètres cubes de solution alcaline d'acide 5-chlorosalicylique, qu'il faut introduire dans un volume total d'un litre, pour tuer les staphylocoques en 24 heures, se calculera de la manière suivante :

$$\frac{3 + 4}{2} \times 200 = 700 \text{ cm}^3$$

La dose antibiotique est donc de 70 g. par litre.

Une deuxième expérience a été faite en modifiant les doses employées dans le but de vérifier ce résultat ou de prendre une moyenne.

Tubes n ^{os}	1	2	3	4
Eau distillée	3	2	1	0
Staphylocoques	0,5	0,5	0,5	0,5
Acide 5-chlorosalicylique.	1,5	2,5	3,5	4,5
Volume total	5	5	5	5
Résultat des subcultures	+	+	—	—

Ici le nombre de centimètres cubes de solution désinfectante nécessaire pour un litre sera de :

$$\frac{2,5 + 3,5}{2} \times 200 = 600 \text{ cm}^3$$

et la dose antibiotique de 60 g. par litre.

La moyenne de ces deux expériences donne pour l'acide 5-chlorosalicylique en solution alcaline (une molécule de soude pour une molécule d'acide) après un contact de 24 heures, une dose antibiotique de 65 g. par litre.

L'exemple qui vient d'être choisi permet de comparer les deux méthodes expérimentées. La méthode directe nous avait donné pour un temps de contact d'une heure une dose antibiotique de 45 g. par litre, alors qu'après un contact de 24 heures la méthode par centrifugation donne une dose antibiotique de 65 g. par litre. Il est donc incontestable que le facteur antigénétique a faussé d'une façon importante la détermination par la méthode directe. La méthode par centrifugation dans laquelle ce facteur est complètement éliminé, donne au contraire une valeur exacte. C'est donc cette méthode qu'il convient d'employer lorsque l'on a affaire à des corps fortement antigénétiques.

CHAPITRE III

ACTION ANTIMICROBIENNE DES ACIDE, ALDEHYDE ET ALCOOL SALICYLIQUES ET DE LEURS DERIVES HALOGENES. RESULTATS PERSONNELS

Dans les deux chapitres précédents, nous avons exposé d'abord les principaux travaux ayant trait à l'activité antimicrobienne des corps phénoliques et de leurs dérivés halogénés, puis les méthodes d'essai auxquelles nous nous sommes arrêté pour nos essais personnels. Nous allons donner, dans ce troisième chapitre, les résultats que nous avons obtenus.

Nous avons commencé par établir les doses et pouvoirs antigénétiques des composés étudiés. Si, en effet, la valeur d'un désinfectant doit être jugée principalement d'après son pouvoir antibiotique, il n'en est pas moins indispensable de connaître aussi son pouvoir antigénétique, et cela pour deux raisons principales :

1° C'est sur cette connaissance que repose l'appréciation des résultats fournis par la méthode « directe » ;

2° En empêchant les microbes de se développer dans certains milieux altérables, en s'opposant en particulier à la germination des spores, des produits possédant un pouvoir antigénétique élevé pourront être envisagés utilement pour la conservation de ces milieux, comme nous le verrons dans la troisième partie.

Nous sommes passé ensuite à la détermination des doses et pouvoirs antibiotiques. Dans le but d'obtenir des valeurs aussi indiscutables que possible, nous avons appliqué parallèlement les deux méthodes exposées en détail dans le chapitre précédent, méthode dite « directe » et méthode par centrifugation. La comparaison des résultats fournis par chacune de ces deux méthodes nous donnera l'occasion d'apprécier leur valeur respective dans le cas qui nous occupe, en même temps qu'elle nous permettra de nous rendre compte des variations de la puissance antimicrobienne provenant des modifications apportées à la constitution chimique des corps essayés.

OBSERVATION PRÉLIMINAIRE. — MODE DE SOLUBILISATION
DES DÉRIVÉS ÉTUDIÉS

Avant d'exposer nos résultats, il nous reste maintenant à préciser les conditions dans lesquelles nous avons dû solubiliser les corps dont nous nous proposons de faire l'essai. La première difficulté, à laquelle nous nous sommes heurté, a été en effet la quasi-insolubilité dans l'eau de la plupart de ces corps. Il ne fallait donc pas songer à les expérimenter tous en solution aqueuse.

Nous avons un moment pensé que nous pourrions mettre à profit le pouvoir dissolvant de certains savons, tels l'oléate de sodium ou le sulforicinate de sodium, en tenant compte de l'influence que pourrait exercer le dissolvant sur le pouvoir désinfectant du corps dissous. A vrai dire les données de la littérature concernant cette action des savons sont quelque peu contradictoires. Tandis qu'un certain nombre d'auteurs, tels B. Lange (372), W. Frei (274), F. Neufeld et Luise Karlbaum (432), J. E. Walker (557, 558, 559), Arnold H. Eggereth (248, 249), H. Schneider (502), J. M. Schaffer et F. W. Tilley (498), Violle (556) admettent que l'action des désinfectants est renforcée en solution savonneuse, d'autres, par exemple Bettylee Hampil (302), H. Bechold (168), P. Uh-

lenhuth et E. Hailer (537), Th. Sabalitschka, etc., attribuent au contraire aux savons une influence affaiblissante.

Quoi qu'il en soit, en ce qui nous concerne, les essais de solubilisation dans des solutions aqueuses d'oléate de sodium ou de sulforicinate de sodium ne nous ont pas donné de résultats satisfaisants.

Avec l'oléate de sodium, par exemple, les acides-phénols provoquaient la formation d'un coagulum par suite d'une double décomposition. Les bromo- et surtout les iodosaligénols, dès que l'on cherchait à les dissoudre à une concentration un peu élevée, occasionnaient une gélification de la solution. Quant aux aldéhydes-phénols halogénés, leurs solubilités ne semblaient pas notablement accrues et, en outre, une partie du corps dissous primitivement finissait par précipiter de nouveau avec le temps.

Des essais dans l'alcool faible (25°) ne nous ont pas donné non plus de résultats dignes d'être retenus.

Il nous a donc fallu avoir recours à la propriété que confère à ces corps leur fonction phénol (jointe à leur fonction acide dans le cas des acides-phénols) de les rendre solubles dans les liquides alcalins. C'est d'ailleurs en solution alcaline que beaucoup d'auteurs ont effectué leurs essais sur les corps phénoliques ou sur leurs dérivés insolubles dans l'eau.

Ce mode de solubilisation présente l'inconvénient d'un affaiblissement important de l'action désinfectante du corps phénolique considéré. Cette diminution avait déjà été signalée par Scheurlen et a été depuis maintes fois confirmée. Ainsi E. Hailer (292) a montré que la puissance désinfectante du crésol est diminuée d'autant plus qu'il y a plus de crésol combiné à l'alcali. L'effet varie d'ailleurs avec l'espèce bactérienne. Le staphylocoque serait assez résistant à une solution alcaline de crésol, tandis que le *Bacterium coli* serait beaucoup plus sensible. Pour F. W. Tilley et J. M. Schaeffer (528) également, la neutralisation des phénols par la soude diminue l'action germicide. De nombreux autres auteurs sont du même avis. D'autre part, si la quantité d'alcali

n'est pas trop élevée et que le désinfectant doive agir sur un produit présentant un caractère acide, il est bien évident que, dans ces conditions, le phénol, se trouvant libéré progressivement, pourra exercer son action. C'est ce qu'ont observé P. Uhlenhuth et E. Hailer (538) avec une solution alcaline de érésol agissant sur des crachats de tuberculeux.

La présence de la soude ayant ainsi pour effet d'abaisser le pouvoir désinfectant, il s'ensuit que les résultats des déterminations en milieu alcalin varieront nécessairement avec les quantités de soude mises en œuvre pour la dissolution. C'est pourquoi, étant contraint d'employer ce mode de solubilisation, nous avons toujours noté exactement les quantités de soude utilisées. Pratiquement nous avons adopté pour nos dissolutions la proportion d'une molécule de soude pour une molécule de chaque corps, quelquefois deux molécules de soude pour une molécule du corps (cas des acides dihalogénés). Pour la commodité des mesures, nous utilisons la solution normale de soude, et, si besoin, la solution deux fois normale.

Quant à l'altération possible des corps expérimentés par l'action prolongée de l'alcali, nous avons vérifié sur plusieurs d'entre eux que, dans les conditions réalisées, ces produits, après être restés dissous pendant plusieurs jours, présentaient, une fois récupérés par acidification de la solution, lavage et dessiccation, les mêmes caractères de pureté, notamment le même point de fusion, qu'avant le contact avec la soude.

Pour deux produits toutefois, l'aldéhyde salicylique et le saligénol, nous avons constaté une altération marquée en liqueur alcaline. Pour l'aldéhyde salicylique, la décomposition était même si rapide (moins d'une heure dans les conditions où nous cherchions à le dissoudre) qu'elle s'est opposée à toute détermination, aussi bien du pouvoir antigénétique que du pouvoir antibiotique. L'altération du saligénol était beaucoup plus lente. Néanmoins, il n'a pas été possible d'établir le pouvoir antigénétique de ce corps en solu-

tion alcaline, étant données la durée de l'expérience et la nécessité de terminer en portant les essais plusieurs jours à l'étuve à $+37^{\circ}$ C., ce qui active naturellement la décomposition. Pour ce qui est du pouvoir antibiotique du saligénol, la durée du contact à froid n'ayant pas excédé une heure avec la méthode « directe » et vingt-quatre heures avec la méthode par centrifugation, nous avons estimé que cet inconvénient ne pouvait avoir qu'une influence limitée et nous donnons plus loin les valeurs obtenues, sous réserve toutefois de la possibilité d'un début d'altération dans les conditions opératoires réalisées. Les saligénols halogénés nous ont paru par contre beaucoup plus stables en solution alcaline que le saligénol lui-même.

Dans les essais que nous avons institués, notre but étant simplement de dissoudre les corps à expérimenter dans les quantités de soude ci-dessus indiquées, nous n'avons pas cherché à étudier l'influence du pH sur l'action antiseptique, ce qui constitue un problème différent. D'ailleurs il eût été impossible de prendre le pH de telles solutions par le potentiomètre à cause du caractère réducteur de certains de ces corps (aldéhydes-phénols) ; quant à la détermination colorimétrique, elle risquait d'être entachée d'erreur, les solutions alcalines des aldéhydes salicyliques halogénés présentant une coloration jaune d'or intense et des modifications de teintes pouvant provenir des sels formés pour les autres corps.

Nous allons maintenant passer à l'examen des tableaux collationnant les résultats de nos expériences.

**A. — DOSES ET POUVOIRS ANTIGENETIQUES DES ACIDE,
ALDEHYDE ET ALCOOL SALICYLIQUES
ET DE LEURS DERIVES HALOGENES
VIS-A-VIS DU « STAPHYLOCOCCUS PYOGENES AUREUS »
ET DU « BACILLUS SUBTILIS »**

Le tableau n° 1 est consacré aux pouvoirs antigénétiques vis-à-vis du *Staphylococcus pyogenes aureus* et du *Bacillus subtilis*, l'antiseptique étant dissous dans la soude.

L'examen des valeurs figurant dans ce tableau n° I (cf. p. 186-187) met en lumière les faits suivants :

Comparés au pouvoir antigénétique du phénol sodique, les pouvoirs antigénétiques de l'acide salicylique et de ses dérivés halogénés en solution alcaline sont nettement plus faibles, sauf pour l'acide diiodosalicylique ; le pouvoir antigénétique de cet acide est en effet environ le double de celui du phénol vis-à-vis du staphylocoque et le triple vis-à-vis du *B. subtilis*.

En solution dans la soude (une molécule de soude pour une molécule d'acide), la dose antigénétique de l'acide salicylique a été de 15 g. par litre vis-à-vis du staphylocoque. Rochaix et Pinet (464), qui, d'ailleurs, n'indiquent pas exactement la quantité de soude qu'ils ont utilisée, donnent une dose antigénétique de 1/150, soit 6 g., 6 p. 1.000 (cf. chapitre I, p. 121). Th. Sabalitschka donne, pour le salicylate de sodium, une dose antigénétique de 20 g. p. 1.000. La valeur trouvée par nous se rapproche donc très sensiblement de celle donnée par Th. Sabalitschka.

Au point de vue antigénétique, les *acides salicyliques halogénés* en solution alcaline ont tous été supérieurs à l'acide salicylique, ce qui est d'accord avec les résultats obtenus par

Rochaix et Pinet avec le staphylocoque ; les doses trouvées par ces auteurs ne concordent toutefois pas avec les nôtres, ce qui s'explique sans doute par la différence des conditions expérimentales.

Dans la série des dérivés monohalogénés, le chlore provoque une augmentation du pouvoir antigénétique un peu plus forte que le brome, mais le dérivé iodé est nettement le plus actif des trois.

Sauf pour l'acide dichlorosalicylique, l'introduction d'un second atome d'halogène, élève encore l'action antigénétique par rapport aux dérivés monohalogénés correspondants. Le brome renforce ici beaucoup plus que le chlore ; mais, comme pour les dérivés monohalogénés, c'est l'iode qui provoque l'augmentation la plus puissante.

Ces résultats sont d'accord aussi avec ceux de Rochaix et Pinet en ce qui concerne les dérivés dichloré et dibromé ; pour les dérivés monohalogénés, ces auteurs attribuaient au dérivé monobromé un pouvoir antigénétique plus grand qu'au dérivé monochloré. Ils ne se sont pas occupés des dérivés iodés.

Les *aldéhydes salicyliques halogénés* se font remarquer par leur pouvoir antigénétique particulièrement élevé. En solution alcaline, ce pouvoir est supérieur, selon le corps envisagé, de 10 à près de 40 fois à celui du phénol sodique.

Les aldéhydes monochloré et monobromé manifestent le même pouvoir antigénétique, tandis que le dérivé monoiodé est beaucoup plus puissant (deux fois et demie environ).

Pour les aldéhydes dihalogénés, le pouvoir antigénétique progresse légèrement, comme dans le cas des acides, du dérivé dichloré au dérivé dibromé, puis fortement lorsque l'on passe au dérivé diiodé.

En solution alcaline les *saligénols halogénés* exercent un pouvoir antigénétique supérieur à celui du phénol sodique, et même à ceux des acides halogénés correspondants, mais inférieur à ceux des aldéhydes.

TABLEAU N° 1.

DOSES ET POUVOIRS ANTIGÉNÉTIQUES VIS-A-VIS DU « STAPHYLOCOCCUS PYOGENES AUREUS »
ET DU « BACILLUS SUBTILIS »

Produits	Titres et alcalinités des solutions antiseptiques utilisées	Staphylocoque		B. subtilis	
		Dose anti- génétique (grammes par litre)	Pouvoir antigéné- tique	Dose anti- génétique (grammes par litre)	Pouvoir antigéné- tique
Phénol	Sol. 2 p. 100 (OHNa N : 25 cm ³ , 3).	1 g., 50	0,66	1 g., 60	0,62
Acide salicylique	Sol. 10 p. 100 (OHNa N : 72 cm ³ , 5).	15 g.	0,066	20 g.	0,05
Acides salicyliques monohalogénés.					
Acide 5-chlorosalicylique...	Sol. 2 p. 100 (OHNa N : 11 cm ³ , 6).	5 g., 50	0,18		
	Sol. 5 p. 100 (OHNa N : 30 cm ³).			15 g.	0,066
Ac. 5-bromosalicylique	Sol. 2 p. 100 (OHNa N : 9 cm ³ , 2).	7 g.	0,14	> 12 g., 5	< 0,08
Ac. 5-iodosalicylique	Sol. 2,5 p. 100 (OHNa N : 9 cm ³ , 5).	3 g.	0,33		
Acides salicyliques dihalogénés.					
Ac. 3-5-dichlorosalicylique..	Sol. 2 p. 100 (OHNa N : 25 cm ³).	7 g.	0,14	9 g., 70	0,10
Ac. 3-5-dibromosalicylique .	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 7 cm ³).	4 g.	0,25	4 g.	0,25
Ac. 3-5-diiodosalicylique ...	Sol. 0,50 p. 100 (OHNa N : 5 cm ³ , 1).	0 g., 75	1,33	0 g., 50	2
Aldéhydes salicyliques monohalogénés.					
Ald. 5-chlorosalicylique	Sol. 0,50 p. 100 (OHNa N : 3 cm ³ , 5).	0 g., 15	6,6	0 g., 25	4
Ald. 5-bromosalicylique	Sol. 0,50 p. 100 (OHNa N : 2 cm ³ , 5).	0 g., 15	6,6	0 g., 25	4
Ald. 5-iodosalicylique	Sol. 0,05 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 2).	0 g., 06	16,66		
	Sol. 0,10 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 4).			0 g., 15	6,6

TABLEAU N° 1 (suite).

DOSES ET POUVOIRS ANTIGÉNÉTIQUES VIS-A-VIS DU « STAPHYLOCOCCUS PYOGENES AUREUS »
ET DU « BACILLUS SUBTILIS »

Produits	Titres et alcalinités des solutions antiseptiques utilisées	Staphylocoque		B. subtilis	
		Dose anti- génétique (grammes par litre)	Pouvoir antigéné- tique	Dose anti- génétique (grammes par litre)	Pouvoir antigéné- tique
Aldéhydes salicyliques dihalogénés.					
Ald. 3-5-dichlorosalicylique.	Sol. 0,10 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 6).	0 g., 10	10	0 g., 20	5
	Sol. 0,20 p. 100 (OHNa N : 1 cm ³).				
Ald. 3-5-dibromosalicylique	Sol. 0,10 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 4).	0 g., 09	11,11	0 g., 24	4,16
	Sol. 0,20 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 7).				
Ald. 3-5-diiodosalicylique...	Sol. 0,10 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 3).	0 g., 04	25	0 g., 09	11,11
Alcools salicyliques monohalogénés.					
5-chlorosaligénol.....	Sol. 1,5 p. 100 (OHNa N : 9 cm ³ , 5).	1 g., 30	0,76	2 g., 70	0,37
5-bromosaligénol	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 5 cm ³).	0 g., 70	1,42	1 g., 35	0,71
5-iodosaligénol	Sol. 2,5 p. 100 (OHNa N : 10 cm ³).	1 g., 25	0,8	1 g., 50	0,66
Alcools salicyliques dihalogénés.					
3-5-dichlorosaligénol	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 5 cm ³ , 2).	0 g., 35	2,85	0 g., 75	1,33
3-5-dibromosaligénol.....	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 1 cm ³ , 8) ...	0 g., 40	2,5	0 g., 45	2,22
diiodosaligénol	Sol. 0,25 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 7).	0 g., 08	12,5	0 g., 12	8,35

Pour les saligénols monohalogénés, le pouvoir antigénétique le plus élevé appartient au dérivé monobromé, les dérivés chloré et iodé étant sensiblement équivalents avec un léger avantage toutefois pour ce dernier.

Contrairement à ce que nous avons constaté pour les acides et les aldéhydes, le pouvoir antigénétique croît du dibromosaligénol au dichlorosaligénol et encore davantage du dichlorosaligénol au diiodosaligénol.

Enfin, si l'on considère l'influence des *groupements fonctionnels* (acide, aldéhyde, alcool), on voit que le pouvoir antigénétique augmente dans l'ordre suivant :

Acides salicyliques halogénés < alcools salicyliques halogénés < aldéhydes salicyliques halogénés.

(N. B. — La détermination des doses et pouvoirs antigénétiques n'a pu être effectuée en solution alcaline pour le saligénol et l'aldéhyde salicylique à cause de l'altération trop rapide de ces solutions).

B. — DOSES ET POUVOIRS ANTIBIOTIQUES DES ACIDE, ALDEHYDE ET ALCOOL SALICYLIQUES ET DE LEURS DERIVES HALOGENES DETERMINEES PAR LA METHODE DIRECTE

Les doses et pouvoirs antibiotiques déterminés par la méthode « directe » vis-à-vis du staphylocoque sont donnés dans le tableau n° II. Aucun des désinfectants employés n'est parvenu à détruire complètement le *B. subtilis*, ce qui s'explique facilement par la résistance bien connue de la spore microbienne. Aussi les essais antibiotiques concernant cette espèce n'ont-ils abouti à aucun résultat. Rappelons à cet endroit que P. Portier (442) a signalé en 1915 la résistance particulièrement élevée de certaines races de ce bacille prélevées sur différents insectes.

TABLEAU N° II

DOSES ET POUVOIRS ANTIBIOTIQUES (MÉTHODE DIRECTE).

Germe en expérience : *Staphylococcus pyogenes aureus*.

Temps de contact : une heure.

Produits	Titres et alcalinités des solutions utilisées	Dose antibiotique (grammes par litre)	Pouvoir antibiotique
Phénol	Sol. 10 p. 100 (OHNa 2 N : 53 cm ³)	20 g.	0,05
Acide salicylique.....	Sol. 20 p. 100 (OHNa 2 N : 72 cm ³).....	80 g.	0,0125
Acides salicyliques monohalogénés.			
Ac. 5-chlorosalicylique.....	Sol. 10 p. 100 (OHNa N : 58 cm ³)	45 g.	0,022
Ac. 5-bromosalicylique	Sol. 10 p. 100 (OHNa N : 46 cm ³ , 5)	50 g.	0,02
Ac. 5-iodosalicylique	Sol. 5 p. 100 (OHNa N : 19 cm ³)	30 g.	0,03
Acides salicyliques dihalogénés.			
Ac. 3-5-dichlorosalicylique ...	Sol. 5 p. 100 (OHNa N : 48 cm ³ , 5)	22 g., 50	0,044
Ac. 3-5-dibromosalicylique ..	Sol. 5 p. 100 (OHNa N : 34 cm ³)	20 g.	0,05
Ac. 3-5-diiodosalicylique	Sol. 2,5 p. 100 (OHNa N : 13 cm ³)	13 g.	0,076
Aldéhydes salicyliques monohalogénés.			
Ald. 5-chlorosalicylique	Sol. 0,50 p. 100 (OHNa N : 3 cm ³ , 2) ...	3 g.	0,33
Ald. 5-bromosalicylique.....	Sol. 0,50 p. 100 (OHNa N : 2 cm ³ , 5) ..	4 g., 25	0,235
Ald. 5-iodosalicylique	Sol. 0,50 p. 100 (OHNa N : 2 cm ³)	2 g., 75	0,363
Aldéhydes salicyliques dihalogénés.			
Ald. 3-5-dichlorosalicylique ..	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 2 cm ³ , 5)	2 g., 25	0,44
Ald. 3-5-dibromosalicylique ..	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 3 cm ³ , 7)	1 g., 70	0,58
Ald. 3-5-diiodosalicylique....	Sol. 0,25 p. 100 (OHNa N : 0 cm ³ , 8) ...	0 g., 50	2
Saligénol	Sol. 20 p. 100 (OHNa N : 80 cm ³ , 5)	40 g.	0,025
Alcools salicyliques monohalogénés.			
5-chlorosaligénol	Sol. 5 p. 100 (OHNa N : 31 cm ³ , 5)	40 g.	0,025
5-bromosaligénol	Sol. 2,5 p. 100 (OHNa N : 12 cm ³ , 5) ...	11 g., 50	0,086
5-iodosaligénol	Sol. 5 p. 100 (OHNa N : 20 cm ³)	32 g., 50	0,03
Alcools salicyliques dihalogénés.			
3-5-dichlorosaligénol	Sol. 5 p. 100 (OHNa N : 26 cm ³)	17 g., 50	0,057
3-5-dibromosaligénol.....	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 3 cm ³ , 6)	4 g., 50	0,22
Diiodosaligénol	Sol. 1 p. 100 (OHNa N : 2 cm ³ , 6)	2 g.	0,50

DISCUSSION DES RÉSULTATS FOURNIS PAR LA MÉTHODE DIRECTE

Considérons les résultats consignés dans ce tableau n° II. Nous ne saurions les accepter sans les avoir soumis à un examen critique sérieux. Dans le chapitre II en effet, nous avons insisté sur l'influence que peut exercer sur les valeurs fournies par la méthode directe la petite quantité d'antiseptique transportée dans le milieu de subculture au cours de l'essai de survie. Il est donc indispensable de calculer cette quantité ainsi transportée et de la comparer à la dose antigénétique du produit essayé. Cette comparaison nous donnera la possibilité d'apprécier la validité des doses et pouvoirs antibiotiques trouvés. C'est là l'objet du tableau n° III.

Il suffit de parcourir les nombres représentant les rapports $\frac{\text{quantités transportées}}{\text{doses antigénétiques}}$ figurant dans ce tableau n° III pour se rendre compte que, dans les conditions de nos expériences, ces rapports sont trop élevés et que par là nous ne nous sommes pas trouvés à l'abri de la cause d'erreur constituée par le facteur antigénétique.

Si en effet on peut admettre comme valables les résultats donnés par la méthode « directe » lorsque la valeur du rapport $\frac{Q. t.}{D. ag.}$ est très faible (par exemple lorsque la quantité de substance transportée est inférieure au 1/1.000 de la dose antigénétique), il n'en va plus de même lorsque ce rapport est très élevé comme dans le cas présent, où il dépasse souvent 1/10. Il est évident que dans ces conditions la petite quantité d'antiseptique transportée dans le milieu de subculture a dû gêner fortement le développement des germes ayant survécu à l'action du désinfectant, mais affaiblis dans leur vitalité par ce contact même.

C'est pourquoi nous avons repris nos essais en appliquant la méthode *par centrifugation*. Nous allons donc indiquer,

TABLEAU N° III

COMPARAISON DES QUANTITÉS D'ANTISEPTIQUES, TRANSPORTÉES DANS LES SUBCULTURES, AUX DOSES ANTIGÉNÉTIQUES, D'APRÈS LES RÉSULTATS DES TABLEAUX I ET II.

Germe en expérience : Staphylocoque.

Produits	Doses anti- biotiques (grammes par litre)	Quantités transportées par litre de subculture Dab Qt = ——— 50 (grammes)	Doses anti- génétiques (grammes par litre)	Valeur du rapport Qt —— D. ag
Phénol.....	20	0,4	1,50	1/3,75
Acide salicylique.....	80	1,60	15	1/9,43
Acides salicyliques monohalogénés.				
Ac. 5-chlorosalicylique	45	0,9	5,50	1/6,134
Ac. 5-bromosalicylique	50	1	7	1/7
Ac. 5-iodosalicylique	30	0,6	3	1/5
Acides salicyliques dihalogénés.				
Ac. 3-5-dichlorosalicylique	22,5	0,45	6,9	1/15,33
Ac. 3-5-dibromosalicylique ..	20	0,4	4	1/10
Ac. 3-5-diiodosalicylique.....	13	0,26	0,75	1/0,288
Aldéhydes salicyliques monohalogénés.				
Ald. 5-chlorosalicylique	3,25	0,065	0,125	1/1,92
Ald. 5-bromosalicylique	4,25	0,085	0,15	1/1,76
Ald. 5-iodosalicylique.....	2,75	0,055	0,06	1/1,09
Aldéhydes salicyliques dihalogénés.				
Ald. 3-5-dichlorosalicylique	2,25	0,045	0,10	1/2,2
Ald. 3-5-dibromosalicylique	1,70	0,034	0,09	1/2,65
Ald. 3-5-diiodosalicylique	0,55	0,011	0,037	1/3,36
Alcools salicyliques monohalogénés.				
5-chlorosaligénol	40	0,80	1,30	1/1,62
5-bromosaligénol	11,5	0,23	0,70	1/3,04
5-iodosaligénol	32,5	0,65	1,25	1/1,92
Alcools salicyliques dihalogénés.				
3-5-dichlorosaligénol	17,50	0,35	0,35	1
3-5-dibromosaligénol.....	4,50	0,09	0,40	1/4,4
Diiodosaligénol	2	0,04	0,08	1/2

dans le tableau n° IV, les doses et pouvoirs antibiotiques trouvés par cette méthode. La technique ainsi utilisée ne comportant plus la cause d'erreur que constitue le facteur antigénétique, nous pourrions nous rendre compte, en comparant les deux séries de résultats, du degré de certitude des valeurs fournies par la méthode « directe ».

**C. — DOSES ET POUVOIRS ANTIBIOTIQUES DES ACIDE,
ALDEHYDE ET ALCOOL SALICYLIQUES
ET DE LEURS DERIVES HALOGENES
DETERMINEES PAR LA METHODE
« PAR CENTRIFUGATION »**

Dans l'application de la méthode par centrifugation nous avons conservé en général les titres et alcalinités des solutions désinfectantes tels qu'ils ont été indiqués pour la méthode « directe ». Dans quelques cas cependant il nous a fallu augmenter la concentration en produit antiseptique, mais nous avons toujours gardé la proportion de 1 molécule de soude pour une molécule du corps (sauf pour les acides dihalogénés pour lesquels nous avons employé, comme dans la méthode « directe », 2 mol. de soude pour 1 mol. d'acide). En outre, le pouvoir antibiotique réel s'étant montré beaucoup moins élevé que ne le faisaient supposer les valeurs trouvées par la méthode « directe », nous avons dû porter le temps de contact à vingt quatre heures, au lieu d'une heure. (Tableau n° IV).

TABLEAU N° IV

DOSES ET POUVOIRS ANTIBIOTIQUES (MÉTHODE PAR CENTRIFUGATION)

Germe en expérience : Staphylocoque.

Temps de contact : 24 heures.

Solutions alcalines.

Produits	Doses antibiotiques (grammes par litre)	Pouvoirs antibiotiques
Phénol	40 g.	0,025
Acide salicylique	> 200 g.	< 0,005
Acides salicyliques monohalogénés.		
Acide 5-chlorosalicylique	65 g.	0,015
» 5-bromosalicylique.....	62 g., 50	0,016
» 5-iodosalicylique	40 g.	0,025
Acides salicyliques dihalogénés.		
Acide 3-5-dichlorosalicylique	49 g.	0,020
» 3-5-dibromosalicylique	36 g.	0,027
» 3-5-diiodosalicylique.....	15 g., 40	0,065
Aldéhydes salicyliques monohalogénés.		
Aldéhyde 5-chlorosalicylique	> 20 g.	< 0,05
» 5-bromosalicylique.....	> 20 g.	< 0,05
» 5-iodosalicylique	> 20 g.	< 0,05
Aldéhydes salicyliques dihalogénés.		
Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique	> 20 g.	< 0,05
» 3-5-dibromosalicylique	> 20 g.	< 0,05
» 3-5-diiodosalicylique.....	> 20 g.	< 0,05
Saligénol	50 g.	0,020
Alcools salicyliques monohalogénés.		
5-chlorosaligénol	50 g.	0,02
5-bromosaligénol.....	25 g.	0,04
5-iodosaligénol	35 g., 50	0,028
Alcools salicyliques dihalogénés.		
3-5-dichlorosaligénol	17 g., 50	0,057
3-5-dibromosaligénol.....	3 g.	0,33
Diiodosaligénol.....	1 g., 55	0,64

MISE EN PARALLÈLE DES RÉSULTATS OBTENUS
PAR LES DEUX MÉTHODES

Comparons maintenant les doses et les pouvoirs antibiotiques trouvés par les deux techniques mises en œuvre. Dans le tableau n° V nous mettons en parallèle ces valeurs antibiotiques.

Il ne saurait être question en effet de faire une comparaison au sens strict du mot entre des déterminations pour lesquelles les conditions expérimentales (temps de contact principalement) ont été tout à fait différentes selon la méthode appliquée. Ce rapprochement n'en sera pas moins très instructif et nous permettra d'établir les conclusions que comportent nos essais. Pour avoir en même temps une vue d'ensemble sur l'action antimicrobienne des corps étudiés, nous rappelons dans les deux premières colonnes de ce tableau n° V les doses et pouvoirs antigénétiques vis-à-vis du staphylocoque, tels qu'ils figurent au tableau n° I.

Du rapprochement que nous permet de faire ce tableau n° V, nous pouvons tirer des conclusions de deux ordres différents : 1° en ce qui concerne le degré de certitude des méthodes utilisées ; 2° en ce qui concerne les résultats auxquels chacune d'elles a conduit.

1° *En ce qui concerne le degré de certitude des méthodes utilisées*, nous constatons que les doses antibiotiques trouvées par centrifugation avec un contact de vingt-quatre heures sont en général plus élevées, et par conséquent les pouvoirs antibiotiques plus faibles, que les valeurs correspondantes trouvées par la méthode « directe » avec un contact d'une heure, exception faite toutefois pour les dérivés dihalogénés du saligénol. Cette constatation confirme une fois de plus l'influence du pouvoir antigénétique dans l'épreuve de survie, les petites quantités de substances transportées dans les milieux de subculture ayant pour effet d'abaisser la va-

TABLEAU N° V

MISE EN PARALLÈLE DES DOSES ET POUVOIRS ANTIBIOTIQUES OBTENUS PAR LES DEUX MÉTHODES AVEC RAPPEL
DES DOSES ET POUVOIRS ANTIGÉNÉTIQUES

Produits	Doses anti- généti- ques (grammes par litre)	Pouvoirs antigéné- tiques	Méthode directe. Temps de contact 1 heure		Méthode par centrifu- gation. Temps de contact 24 heures	
			Doses an- tibiotiques (grammes par litre)	Pouvoirs antibio- tiques	Doses an- tibiotiques (grammes par litre)	Pouvoirs antibio- tiques
Phénol	1 g., 50	0,66	20 g.	0,05	40 g.	0,025
Acide salicylique	15 g.	0,066	80 g.	0,0125	> 200 g.	< 0,005
Acide 5-chlorosalicylique.....	5 g., 50	0,18	45 g.	0,022	65 g.	0,015
Ac. 5-bromosalicylique	7 g.	0,14	50 g.	0,02	62 g., 50	0,016
Ac. 5-iodosalicylique	3 g.	0,33	30 g.	0,033	40 g.	0,025
Ac. 3-5-dichlorosalicylique	7 g.	0,14	22 g., 50	0,044	49 g.	0,020
Ac. 3-5-dibromosalicylique	4 g.	0,25	20 g.	0,05	36 g.	0,027
Ac. 3-5-diiodosalicylique	0 g., 75	1,33	13 g.	0,076	15 g., 40	0,065
Aldéhyde 5-chlorosalicylique	0 g., 15	6,6	3 g.	0,33	> 20 g.	< 0,05
Ald. 5-bromosalicylique	0 g., 15	6,6	4 g., 25	0,235	> 20 g.	< 0,05
Ald. 5-iodosalicylique.....	0 g., 06	16,66	2 g., 75	0,363	> 20 g.	< 0,05
Ald. 3-5-dichlorosalicylique ..	0 g., 10	10	2 g., 25	0,44	> 20 g.	< 0,05
Ald. 3-5-dibromosalicylique .	0 g., 09	11,11	1 g., 70	0,58	> 20 g.	< 0,05
Ald. 3-5-diiodosalicylique ...	0 g., 04	25	0 g., 50	2	> 20 g.	< 0,05
Saligénol			40 g.	0,025	50 g.	0,020
5-chlorosaligénol.....	1 g., 30	0,76	40 g.	0,025	50 g.	0,020
5-bromosaligénol	0 g., 70	1,42	11 g., 50	0,086	25 g.	0,04
5-iodosaligénol	1 g., 25	0,8	32 g., 50	0,03	35 g., 50	0,028
3-5-dichlorosaligénol	0 g., 35	2,85	17 g., 50	0,057	17 g., 50	0,057
3-5-dibromosaligénol	0 g., 40	2,5	4 g., 50	0,22	3 g.	0,33
Diiodosaligénol	0 g., 08	12,5	2 g.	0,50	1 g., 55	0,64

leur de la dose antibiotique dans les essais effectués par la méthode « directe ». Ce fait est particulièrement manifeste pour les aldéhydes salicyliques halogénés, corps à pouvoirs antigénétiques très élevés et à faible pouvoir antibiotique.

Toutes les fois donc qu'il s'agira d'établir la valeur de désinfectants très antigénétiques et peu antibiotiques, la préférence devra être donnée à la méthode par centrifugation, la méthode « directe » étant formellement exclue.

2° En ce qui concerne les résultats auxquels chaque méthode a conduit :

Malgré les différences que nous venons de relever entre les deux séries de valeurs antibiotiques, nous observons cependant un parallélisme très net entre les résultats fournis par chacune des deux méthodes pour ce qui concerne les acides salicyliques et les saligénols halogénés.

Dans les deux cas, les pouvoirs antibiotiques de l'acide salicylique et de ses dérivés halogénés sont inférieurs au pouvoir antibiotique du phénol, sauf pour l'acide dibromé et pour l'acide diiodé.

La dose antibiotique de l'acide salicylique dissous dans la soude, déterminée par centrifugation avec un temps de contact de 24 heures, a été trouvée supérieure à 200 g. par litre. On peut en conclure que le pouvoir antibiotique du salicylate de sodium est très faible. Ceci est d'accord avec l'opinion de la plupart des auteurs qui ont constaté que la salification diminuait considérablement les propriétés antimicrobiennes de l'acide salicylique (comme d'ailleurs des autres acides). Seuls H. Vincent (551) et Garofeanu et E. Jean (279) attribuent au contraire au salicylate de sodium un pouvoir antibiotique élevé.

L'halogénéation augmente le pouvoir antibiotique de l'acide salicylique aussi bien d'après les résultats de la méthode directe que d'après ceux de la méthode par centrifugation.

Pour les dérivés monohalogénés, le dérivé iodé est le plus actif, le dérivé chloré et le dérivé bromé étant sensiblement équivalents.

Les dérivés dihalogénés sont supérieurs aux monohalogénés, le pouvoir antibiotique augmentant du dichloré au dibromé et un peu plus fortement du dibromé au diiodé.

Pour ce qui est des aldéhydes salicyliques halogénés, des difficultés de solubilisation nous ayant empêché d'obtenir la concentration qui eût été nécessaire, la méthode par centrifugation ne nous a pas permis d'arriver à une valeur nette. Comme nous l'avons fait observer plus haut, le pouvoir antigénétique de ces corps a entièrement faussé les résultats fournis par la méthode directe. Leur pouvoir antibiotique est notablement inférieur aux nombres donnés par cette méthode.

Le saligénol et le 5-chlorosaligénol ont un pouvoir antibiotique plus faible que le phénol et inférieur également à celui de l'acide salicylique, aussi bien par la méthode directe que par centrifugation. Tous les autres dérivés halogénés du saligénol sont supérieurs au phénol, sauf l'iodosaligénol par la méthode directe.

Le 5-chlorosaligénol montre une action égale à celle du saligénol. Les autres dérivés halogénés sont tous plus actifs que le saligénol lui-même.

Le pouvoir antibiotique des dérivés monohalogénés croît du monochloré au monoiodé puis au monobromé.

Les dérivés dihalogénés sont plus actifs que les monohalogénés. Le pouvoir antibiotique augmente du dichloré au diiodé en passant par le dibromé. Remarquons que les doses antibiotiques trouvées par centrifugation avec 24 heures de contact sont très voisines de celles qu'a données la méthode directe avec 1 heure de contact. Les pouvoirs antibiotiques varient dans le même sens quelle que soit la technique.

La qualité de l'halogène ne paraît pas ici non plus exercer une influence régulière. Les dérivés iodés se sont montrés plus actifs que leurs isomères chlorés et bromés, ce

qui est d'accord avec F. Ishiwara (318) ; une seule exception est à relever pour le monoiodosaligénol. Pour les deux autres substituants, l'avantage est tantôt en faveur du chlore, tantôt en faveur du brome, le brome toutefois paraissant provoquer des renforcements du pouvoir antibiotique plus fréquemment que le chlore, ce qui cadre avec les résultats de H. Bechhold et P. Ehrlich (171).

En ce qui concerne l'influence des fonctions, les alcools-phénols se sont montrés plus actifs que les acides quelle que soit la méthode employée. Mais la comparaison ne peut être poussée plus loin, le pouvoir antibiotique réel des aldéhydes n'ayant pu être déterminé avec certitude.

CONCLUSIONS DU TROISIÈME CHAPITRE

L'exposé qui vient d'être fait de nos essais sur les dérivés halogénés de la série salicylique nous conduit aux conclusions suivantes :

1° Si l'on considère les méthodes d'essai utilisées, seule la méthode par centrifugation a été capable de nous fournir des résultats incontestables, vu le pouvoir antigénétique élevé des composés étudiés. Avec de tels corps, la méthode « directe » ne peut donner que des résultats douteux sinon totalement erronés. C'est là une confirmation, dans le cas particulier des dérivés salicyliques, du travail de S. Lambin.

2° Nous retiendrons surtout le pouvoir antigénétique très élevé des aldéhydes salicyliques halogénés. Nous chercherons à étendre l'étude de cette propriété dans notre troisième partie.

3° L'halogénéation augmente en général les valeurs antigénétiques et antibiotiques du noyau salicylique.

L'introduction d'un second atome d'halogène accroît encore dans la plupart des cas l'action antimicrobienne par rapport au dérivé correspondant monohalogéné.

La qualité de l'halogène ne semble pas exercer une influence régulière. Les dérivés iodés se sont montrés souvent les plus actifs ; pour les deux autres substituants, l'action la plus forte est constatée tantôt avec le chlore tantôt avec le brome.

4° Les pouvoirs antigénétiques croissent dans l'ordre :
acides salicyliques halogénés < alcools salicyliques halogénés < aldéhydes salicyliques halogénés.

Cette progression se retrouve pour les pouvoirs antibiotiques en ce qui concerne les deux premières fonctions, toute base de comparaison faisant défaut pour la fonction aldéhyde.

Tous ces résultats se rapportent à des essais effectués en solution alcaline.

TROISIEME PARTIE

INTRODUCTION

Dans la deuxième partie nous avons étudié les pouvoirs antigénétiques et antibiotiques des acide, aldéhyde et alcool salicyliques halogénés vis-à-vis du staphylocoque principalement. Nous avons dû, étant donné la très faible solubilité de ces corps dans l'eau, opérer en solution alcaline.

De cette étude nous avons retenu :

1° Que ces corps sont intéressants par leurs propriétés antigénétiques, et tout particulièrement les aldéhydes halogénés ;

2° Que leurs propriétés antibiotiques au contraire ne leur donnent aucun avantage sur les autres désinfectants connus.

Il était donc indiqué de chercher à connaître ces propriétés antigénétiques de façon plus approfondie en s'adressant à un plus grand nombre de microorganismes. Nous avons été ainsi amené à expérimenter ces corps pour assurer la protection de certains milieux naturels ou artificiels offrant par leur composition des conditions particulièrement favorables au développement des germes de l'air. Dans ce but nous avons essayé ces dérivés salicyliques halogénés en les ajoutant en nature, à l'état solide, à divers liquides (eau peptonée, liquide de Raulin, urine, etc...) et noté à quelles doses et dans quelles conditions ces liquides pouvaient demeurer sans altération appréciable de nature microbienne. L'exposé de ces recherches va faire l'objet de cette troisième partie.

Dans cet ordre d'idées précisément des faits intéressants ont été apportés au cours de ces dernières années par les travaux de Th. Sabalitschka et de ses collaborateurs. Cet auteur a montré qu'un certain nombre d'esters de l'acide p-oxybenzoïque possèdent un pouvoir antigénétique appréciable. Dans la deuxième partie (chapitre premier) nous avons eu l'occasion d'analyser ces travaux du point de vue théorique.

Passant aux applications pratiques, Th. Sabalitschka a montré que, malgré leur solubilité restreinte, ces esters sont susceptibles d'être utilisés comme agents de conservation de produits périssables très divers.

Nous allons donc commencer par rapporter, dans cette introduction, les résultats obtenus par Th. Sabalitschka dans ce domaine pratique.

LES ESTERS P-OXYBENZOÏQUES COMME AGENTS DE CONSERVATION TRAVAUX DE TH. SABALITSCHKA

PROPRIÉTÉS DES ESTERS P-OXYBENZOÏQUES. — L'utilisation dans la pratique des esters proposés par Th. Sabalitschka se trouve naturellement conditionnée par leurs propriétés physico-chimiques. Voici, d'après cet auteur, les caractéristiques des deux esters les plus utilisés.

P-oxybenzoate de méthyle (Nipagine). — Poudre blanche, microcristalline, fondant à $+126-127^{\circ}$ C.

1 litre d'eau en dissout 50 g. à l'ébullition et en retient seulement 2 g., 50 après refroidissement. Cette solution aqueuse se conserverait indéfiniment.

Dans l'alcool à différents titres la solubilité est la suivante :

1	litre d'alcool à	95°	en dissout	400 g.
1	—	70°	—	200 g.
1	—	50°	—	60 g.
1	—	20°	—	7 g.

L'huile en dissout 2,5 p. 100, le glycérol 1,5 p. 100 et l'acétone 30 p. 100.

P-oxybenzoate de propyle (Nipasol). — Poudre blanche fondant à +97° C.

1 litre d'eau bouillante en dissout 3 g. à l'ébullition et en retient 0 g., 50 à la température ordinaire.

1 litre d'alcool à 95° en dissout 550 g.

1	—	70°	—	400 g.
---	---	-----	---	--------

1	—	50°	—	150 g.
---	---	-----	---	--------

1	—	30°	—	7 g., 5
---	---	-----	---	---------

1	—	20°	—	1 g., 3
---	---	-----	---	---------

L'huile en dissout 2,5 p. 100, le glycérol 0,7, l'acétone 30 p. 100.

Comme on le voit ces esters sont très peu solubles dans l'eau. Néanmoins leur pouvoir antigénétique élevé permet fréquemment de les employer en nature.

Ils peuvent aussi être employés à l'état de dérivés sodés, qui se présentent sous forme de poudres blanches très solubles dans l'eau (1 partie dans 1 p., 5 d'eau à la température ordinaire) et très hygroscopiques.

A la différence des acides ou des phénols, qui voient leur pouvoir antimicrobien fortement diminué par la salification ou la transformation en phénates, ces dérivés sodés conservent les propriétés de l'ester qui leur a donné naissance (476). Nous avons déjà vu (deuxième partie, chapitre premier) que cette persistance des propriétés antibactériennes de l'ester dans son dérivé sodé peut être rapportée principalement aux propriétés physiques de celui-ci : une solution aqueuse de ce dérivé sodé, agitée avec de l'éther, cède à ce dissolvant une partie importante du produit dissous, tandis qu'une solution aqueuse de salicylate de sodium, traitée de même, retient la presque totalité du sel. Il en résulte évidemment un comportement spécial de la première solution au point de vue tension superficielle, adsorption, partage entre l'eau et les lipides..., qui est à l'avantage de l'ester sodé.

D'autre part, tandis que les acides et beaucoup de désinfectants sont notablement amoindris dans leur action sur les microbes par la présence de matières organiques, et en particulier de matières albuminoïdes, les esters p-oxybenzoïques ne sont pas diminués par ces substances.

Th. Sabalitschka (477) a en outre observé que le mélange de deux de ces esters augmente leur solubilité et renforce en même temps leur efficacité. Tandis que 0,15 p. 100 d'ester éthylique ne tue pas le staphylocoque en 24 heures et que 0,1 p. 100 d'ester isopropylique ne permet d'atteindre ce résultat qu'au bout de 24 heures, le mélange de ces deux esters aux mêmes concentrations respectives tue ce microbe en deux heures ; le même mélange tue le *B. coli* en 30 minutes et le *B. paratyphique* B en 5 minutes. W. Bonde (190) trouve également que le mélange de 0,035 p. 100 de p-oxybenzoate de méthyle et 0,065 p. 100 de p-oxybenzoate de propyle, adopté par Th. Sabalitschka, exerce une action antigénétique très marquée à l'égard d'un grand nombre de microorganismes ; seul le bacille pyocyanique se montre particulièrement résistant. Au point de vue antibiotique, ce mélange, d'après le même auteur, tue le bacille de Friedlaender et *B. proteus* en 24 heures, le streptocoque en 48 heures, le staphylocoque en 72 heures. Par contre les spores des espèces sporulées ne sont pas tuées même en 7 jours ; il y a simplement empêchement de la germination.

Le fait que le mélange de deux désinfectants présente des propriétés antimicrobiennes plus élevées que les deux constituants pris séparément n'est d'ailleurs pas particulier aux esters en question, mais se trouve vérifié dans d'autres séries de corps. Par exemple, Etinger, R. Tulczinska et W. Ulrich (267) l'ont constaté avec les mélanges de dérivés monochlorés de divers phénols.

W. Frei et C. Margadant (275) observent aussi que le pouvoir antiseptique d'un mélange de deux désinfectants n'est pas simplement la somme ou la moyenne arithmétique de

leurs actions respectives, mais qu'il y a souvent renforcement notable de ces désinfectants l'un par l'autre.

ACTION PHYSIOLOGIQUE. — Au point de vue de leur action sur l'organisme, ces esters se sont montrés à peu près dépourvus de toxicité. K. Schübel et J. Manger (506) ont étudié leur action physiologique. Ils ont trouvé que la toxicité diminue à mesure que le poids moléculaire de l'alkyle estérifiant la fonction acide augmente. Dans des expériences effectuées sur des chiens ou des lapins, ils ont obtenu les valeurs suivantes :

	DOSE TOXIQUE (grammes p. kg.)	DOSE MORTELLE (grammes p. kg.)
Ester méthylique	2	3
Ester éthylique	4	5
Ester propylique	3-4	6

Comparativement la dose mortelle de l'acide salicylique pour le lapin est de 1 g., 1 à 1 g., 6 par kg. et celle du salicylate de méthyle pour le chien de 2 g. à 2 g., 1 par kg. (F. Flury et F. Zernik, 271), celle de l'acide benzoïque de 2 g. par kg. (Rost, Franz et Wetzel, 467), celle du p-chlorobenzoate de sodium (microbine) de 2 g. à 2 g., 5 par kg. (K. Schübel et J. Manger, 507).

Les esters p-oxybenzoïques sont donc beaucoup moins toxiques que leurs isomères salicyliques.

Il est en outre à remarquer que la toxicité varie donc en sens inverse de l'action bactéricide, puisque celle-ci augmente au contraire à mesure que le poids moléculaire de l'alkyle s'accroît.

L'ester benzylique est également dépourvu de toxicité, Th. Sabalitschka (474). Un cobaye de 720 g. reçut pendant 19 jours 1 g. d'ester benzylique sans en paraître incommodé. Pour autant qu'une comparaison puisse être établie entre le cobaye et l'homme, cette quantité correspondrait à une dose quotidienne de 90 g. d'ester benzylique pour un homme de 65 kgs.

H. Eschenbrenner et R. Kohn (264) n'ont eux non plus observé aucun effet toxique manifeste en administrant par voie parentérale à des rats et à des chiens des quantités de nipasol sodique correspondant à une dose de 3 g., 5 par jour pour un homme de 70 kgs.

Leschke a pu administrer en injections 2 cm³ de solution de nipasol sodique à 10 p. 100 sans observer autre chose qu'un peu de vasodilatation.

Toujours au point de vue physiologique, il a été démontré encore que les esters p-oxybenzoïques n'altèrent pas les vitamines des milieux auxquels ils sont ajoutés (H. Cremer, 230) et que, contrairement à l'action néfaste des acides benzoïque et salicylique sur les ferments (E. von Meyer, 414 ; A. Heiduschka et J. Förster, 307 ; H. Kluge, 345,...), ils ont plutôt une action favorable. L'activité amylolytique n'est pas influencée et dans certains cas (trypsine, déshydrase, peroxydase) on observe une activation notable ; seuls le dédoublement des graisses et l'hydrolyse pepsique seraient gênés par leur présence (Th. Sabalitschka, 477 ; Bleyer B., Diehmair W., Léonhard K., 181).

En résumé, d'après les travaux précédents, les esters p-oxybenzoïques présentent comme principaux avantages d'être : insipides, inodores, peu aptes à entrer en réaction, peu toxiques, doués d'un fort pouvoir antibactérien, relativement indépendants du milieu dans lequel ils doivent agir.

APPLICATIONS PRATIQUES. — Ces constatations ont amené Th. Sabalitschka et ses collaborateurs à reprendre l'étude des altérations provoquées par les microorganismes, dans le domaine des préparations pharmaceutiques en particulier, et à essayer les esters p-oxybenzoïques comme agents de conservation. Ces essais ont fait l'objet d'un grand nombre

de Mémoires (n^{os} 187, 189, 190, 199, 200, 258 à 266, 468 à 491 ; Buchi, 199 ; Vieh Jennsen et Holger Cruer, 548,...), que nous allons résumer brièvement.

Les altérations que peuvent subir les préparations médicamenteuses du fait des microorganismes sont très connues des pharmacologues et ont fait l'objet d'une littérature très touffue (cf. en particulier H. Hérissé, 309). Reprenant la question, Th. Sabalitschka rappelle que le développement de microorganismes dont les diverses formes médicamenteuses sont souvent le siège, n'est pas sans influencer sur leur efficacité thérapeutique (destruction ou modification des alcaloïdes [Tagliavini, 522 ; Norgaard, 434 ; Dietzel et K. Sollner, 243 ; R. Dietzel et W. Hass, 241 ; R. Dietzel, F. Schlemmer et R. Fischer, 242 ; C. Stich, 519 ; Rapp, 448 ; Buchi et Muller, 200 ; A. de Clercq, 237,...], chlorate de potassium réduit en chlorure au bout de plusieurs mois (Th. Sabalitschka, 476), saccharose du sirop simple transformé en sucre interverti par les moisissures (Wischno et Zechner, 568)...]

Il y a lieu de considérer aussi que, dans le cas de préparations très facilement altérables comme les potions, le malade risque d'absorber à chaque prise un nombre élevé de microbes qui, pour n'être pas pathogènes, peuvent néanmoins exercer à la longue une action défavorable sur son économie. Il est connu également que même des solutions dans l'eau distillée de sels doués cependant d'un certain pouvoir antiseptique (borate de sodium, sulfate de zinc, arsénite de potassium, acide borique) sont fréquemment envahies par les microorganismes (K. C. Berthelsen, 176 ; E. Modersprach et K. C. Berthelsen, 418 ; Wirth E., 567). L'eau distillée elle-même en renferme toujours un nombre plus ou moins considérable (P. Muller, 426).

Th. Sabalitschka a donc procédé ou fait procéder à un grand nombre d'expériences sur l'emploi des esters p-oxybenzoïques pour la conservation des préparations pharmaceutiques altérables depuis les sucs végétaux (Serger 514), sirops (Böhm et Jeglinski, 187), pilules (Eschenbrenner,

259)...., jusqu'aux glycérolés, pommades et onguents (Böhm et Jeglinski, 187 ; Augustin, 160, 161), suppositoires (Budde, 201 ; Eschenbrenner, 258)...., ainsi que pour celle de nombreux autres produits techniques susceptibles d'altérations microbiennes (pâtes dentifrices: Kneidinger, 347 ; Welwart, 563), cosmétiques, savons,...).

La stérilisation des liquides injectables d'autre part n'est pas toujours réalisable par la chaleur (substances thermolabiles) et la stérilisation par filtration exige de grandes précautions (Cf. notamment Lesure, 391 ; Konrich, 355, 356, 357 ; Budde, 202 ; Schwenke, 511). Erich Leschke (390), H. Eschenbrenner (261, 262, 263), H. Eschenbrenner et Stoesz (266), préconisent dans ces cas la dissolution du principe actif dans une solution de nipasol préparée à l'ébullition et déjà stérile par elle-même. Ce mode de stérilisation peut d'ailleurs être combiné avec la filtration à froid ou la chaleur.

Les essais de conservation effectués sous sa direction ayant donné des résultats favorables, Th. Sabalitschka a retenu notamment comme les plus efficaces les esters méthylrique (nipagine) et propylique (nipasol) de l'acide p-oxybenzoïque, ainsi que, pour des usages spéciaux, son ester benzyle (nipabenzyle). Il a également proposé sous les noms de « nipa-sterilisator » ou de « nipakombin » des mélanges de ces esters. Les esters eux-mêmes peuvent souvent être remplacés par leurs dérivés sodés (nipagin-natrium, nipasol-natrium), très solubles dans l'eau.

Pour l'usage, ces antiseptiques doivent être dissous dans l'eau bouillante (excepté les dérivés sodés), avant la dissolution du principe actif pour les solutions simples, ou bien dans les préparations bouillantes (sirops) ou chaudes (huiles). On peut encore préparer une solution alcaline concentrée ou une solution alcoolique de l'antiseptique, dont on ajoutera la quantité voulue à la préparation à conserver.

La nipagine a été plus spécialement appliquée par les auteurs aux préparations pour l'usage interne. Aux doses de 0 g., 07 à 0 g., 15 ou 0 g., 20 p. 100, elle permettrait la con-

servation des sirops, malts, extraits de plantes, gelées, mucilages, électuaires, masses pilulaires, émulsions. Pour la conservation des suppositoires, il faudrait utiliser 0,30 p. 100, pour les pommades 0,25 p. 100, pour les émulsions de paraffine 0,60 p. 100. L'eau oxygénée serait stabilisée avec 0,15 p. 100. A cette même dose, la nipagine permettrait la conservation d'urines destinées à l'analyse.

Le nipasol est plus spécialement approprié à la conservation de solutions stérilisées. Pour les solutions d'alcaloïdes, p. ex., on fait dissoudre la substance dans une solution de nipasol à 0,04-0,05 p. 100, obtenue préalablement dans l'eau bouillante. On peut compléter la stérilisation par une filtration. De telles solutions seraient capables de se conserver indéfiniment sans être souillées par aucun germe.

La préparation des collyres (H. Eschenbrenner, 260 ; W. Bonde, 189) est soumise aux mêmes règles.

Pour les solutions huileuses stérilisées le nipasol s'emploie à la dose de 0,15 p. 100.

Il a été proposé également pour soins dentaires.

Pour la stérilisation du catgut ou de la soie, qui présente encore certaines difficultés comme l'ont montré W. Greiff (288) et Knorr (348), on trempe ces matières dans une solution de nipasol dans l'alcool à 25° au moins.

Le mélange des deux esters serait encore plus efficace en solution dans la proportion de 0,035 p. 100 de nipasol et 0,065 p. 100 de nipagine (W. Bonde, 190).

Les seringues pour injections seraient stérilisées en les nettoyant avec une solution de nipasol-natrium à 0,4 p. 100.

Ces esters permettraient également la conservation du sérum du sang, stérilisé préalablement, à la dose de 0,70 à 0,80 p. 100.

L'emploi de ces esters est admis en Allemagne, sous réserve d'une mention sur l'étiquette pour les produits alimentaires. Ils figurent dans la Pharmacopée allemande (6^e édition) et dans la Pharmacopée suisse (5^e édition).

Les résultats obtenus par Th. Sabalitschka nous ont naturellement conduit à essayer ces esters conjointement avec les dérivés salicyliques halogénés. Bien que n'appartenant pas à la série salicylique (ortho), la comparaison pouvait offrir néanmoins un certain intérêt. En même temps nous avons été amené à essayer aussi le pouvoir de conservation du salicylate de méthyle et des esters méthylsalicyliques halogénés correspondant aux acides salicyliques étudiés dans la deuxième partie.

La nipagine et le nipasol que nous avons utilisés provenaient, ainsi que leurs dérivés sodés, de la firme Julius Penner à Berlin.

Enfin, pour terminer notre travail, nous avons institué quelques expériences dans le but de déterminer la toxicité des dérivés salicyliques, qui s'étaient montrés le plus capables d'assurer la conservation des milieux soumis à leur action.

Cette *troisième partie* sera donc divisée en deux chapitres, le premier ayant trait aux essais de conservation, le second aux déterminations de toxicité.

CHAPITRE PREMIER

ESSAIS DE CONSERVATION DE DIVERS MILIEUX NATURELS OU ARTIFICIELS AU MOYEN DES ACIDE, ALDEHYDE ET ALCOOL SALICYLIQUES ET DE LEURS DERIVES HALOGENES

COMPARAISON AVEC LES P-OXYBENZOATES DE METHYLE ET DE PROPYLE

Les essais que nous avons institués en vue d'étudier l'action antigénétique des dérivés salicyliques halogénés vis-à-vis d'espèces variées de microorganismes pouvant provenir en particulier d'un ensemencement spontané à l'air libre, ont été effectués sur des solutions aqueuses, les différents corps étant ajoutés à l'état solide aux liquides à conserver.

Nous avons dû renoncer en effet à utiliser la soude comme dissolvant, ce qui nous eût donné une plus grande latitude de solubilité. Les solutions antiseptiques préparées dans les mêmes conditions que pour les expériences relatées dans la deuxième partie provoquaient dans presque tous les liquides des précipitations, soit par suite de la réaction du milieu (re-précipitation de l'antiseptique dans les liquides présentant un pH acide, et ceci est vrai également pour les dérivés sodés des esters p-oxybenzoïques), soit par suite de doubles décompositions ou de réactions avec les autres constituants du produit expérimenté.

Le pouvoir antigénétique des corps essayés s'est donc manifesté dans ces essais pour ainsi dire à l'état pur. Ceci nous a amené à déterminer le pouvoir antigénétique et antibiotique (méthode par centrifugation : temps de contact 24 heures) en solution aqueuse pour les quelques corps dont la solubilité dans l'eau s'est trouvée suffisante. Nous donnerons en même temps le pouvoir antigénétique des p-oxybenzoates de méthyle et de propyle en solution aqueuse et en solution alcaline. Quant aux pouvoirs antigénétiques des esters mé-

DOSES ET POUVOIRS ANTIGÉNÉTIQUES ET ANTIBIOTIQUES
EN SOLUTION AQUEUSE.

Produits	Titres des solutions	Staphylocoque		Staphylocoque	
		Dose anti-génétique (grammes par litre)	Pouvoir antigénétique	Dose antibiotique (grammes par litre)	Pouvoir antibiotique
Phénol	Solution 5 p. 100.....	2 g., 50	0,40	3 g.	0,33
Acide salicylique	Sol. à 1 p. 500.....	0 g., 80	1,25	1 g., 60	0,62
Acide 5-chlorosalicylique....	Sol. saturée (0,85 p. 1.000)...	0 g., 50	2		
Aldéhyde salicylique	Sol. à 5 p. 1.000.....	0 g., 35	2,85		
Saligénol	Sol. 6 p. 100	3 g.	0,33	17 g.	0,058
5-chlorosaligénol	Sol. 1 p. 100	1 g., 60	0,62		
p-oxybenzoate de méthyle ..	Sol. à 2 p. 1000.....	1 g.	1		
p-oxybenzoate de propyle ..	Sol. à 1 p. 1000.....	0 g., 55	1,81		
<i>Solutions alcalines.</i>					
p-oxybenzoate de méthyle ..	Sol. 1 p. 100	2 g., 75	0,36		
	(OHNa N : 6 cm ³ , 6).				
p-oxybenzoate de propyle ..	Sol. 0,50 p. 100	0 g., 375	2,66		
	(OHNa N : 5 cm ³ , 9).				

thylsalicyliques halogénés, ils n'ont pu être déterminés en solution aqueuse à cause de la trop faible solubilité de ces corps, ni en solution alcaline, car, même à la température ordinaire, le dédoublement de ces esters est très rapide ainsi que l'on peut s'en convaincre par une simple acidification du liquide : on récupère dans ces conditions non l'ester, mais l'acide lui-même. Les doses antigénétiques trouvées ne correspondraient donc pas à l'ester, mais à un mélange du sel de sodium de l'acide halogéné, d'alcool méthylique et d'ester non encore saponifié.

Les concentrations nécessaires pour la détermination des doses antibiotiques ont été atteintes seulement pour le phénol, l'acide salicylique et le saligénol.

Pour ce qui est des doses et pouvoirs antigénétiques, les quelques résultats portés sur le tableau ci-contre appellent les observations suivantes :

En solution aqueuse la dose antigénétique du phénol a été trouvée égale à 2 g., 50 par litre et la dose antibiotique, déterminée par centrifugation et après un contact de 24 heures, égale à 3 g. par litre. Si l'on compare ces résultats avec ceux qui ont été obtenus en solution alcaline (cf. 2^e partie, chapitre 3, p. 186), on voit que la transformation en phénate alcalin diminue notablement le pouvoir antimicrobien, ce qui confirme un fait déjà reconnu par de nombreux auteurs.

Pour l'acide salicylique dissous dans l'eau, nous avons trouvé une dose antigénétique, vis-à-vis du staphylocoque, égale à 0 g., 80 par litre [Wehmer indique 0 g., 60 (cf. 1^{re} partie, chapitre 1^{er}, p. 117)] et une dose antibiotique de 1 g., 60 par litre, déterminée par la méthode par centrifugation avec un temps de contact de 24 heures.

L'acide salicylique est donc un désinfectant supérieur au phénol.

L'introduction d'un groupement CO^2H dans le noyau du phénol augmente donc le pouvoir désinfectant, contrairement

à l'opinion de Fusao Ishiwara, mais en accord avec Th. Sabalitschka et d'autres auteurs.

Si l'on compare maintenant les résultats obtenus pour l'acide salicylique en solution aqueuse avec ceux obtenus en liqueur alcaline (cf. 2^e partie, chapitre 3), nous constatons, comme d'ailleurs la plupart des auteurs, que la salification diminue considérablement les pouvoirs antigénétique et antibiotique de l'acide salicylique. Seuls H. Vincent (551) et Garofeanu et E. Jean (279) attribuent au contraire au salicylate de sodium un pouvoir antibiotique élevé.

Passons à l'aldéhyde salicylique. Nous avons vu dans la deuxième partie que la rapide altération de cet aldéhyde en solution alcaline n'avait permis aucune détermination qui puisse apporter une base de comparaison avec les autres corps solubilisés dans les mêmes conditions. Les expériences ci-dessus effectuées en solution aqueuse montrent que l'aldéhyde salicylique possède un pouvoir antigénétique supérieur à celui de l'acide salicylique et aussi à celui du phénol, ce qui est d'accord avec Th. Bokorny (188), Samter (495), Salkowski (493).

Quant au saligénol, en solution aqueuse, la dose antigénétique a été de 3 g. p. 1000 et la dose antibiotique de 17 g. p. 1000, dans les conditions indiquées. G. Cohn (219) lui attribue une dose antibiotique de 20 g. p. 1000 après 24 heures de contact, le germe utilisé étant également le staphylocoque.

Le pouvoir antigénétique et le pouvoir antibiotique du saligénol sont donc inférieurs respectivement aux pouvoirs antigénétiques de l'aldéhyde et de l'acide salicylique et du phénol et aux pouvoirs antibiotiques de l'acide salicylique et du phénol.

Plaçons-nous maintenant au point de vue de l'influence des groupements fonctionnels sur le pouvoir antibactérien. Considérons les valeurs données ci-dessus pour les pouvoirs anti-

génétiques et antibiotiques de l'acide, de l'aldéhyde et de l'alcool salicyliques en solution aqueuse :

	ACIDE SALICYLIQUE	ALDÉHYDE SALICYLIQUE	ALCOOL SALICYLIQUE
Pouvoir antigénétique	1,25	2,85	0,33
Pouvoir antibiotique	0,62		0,058

En solution aqueuse donc, les pouvoirs antigénétiques croissent dans l'ordre : alcool < acide < aldéhyde. Le pouvoir antibiotique de l'alcool est inférieur à celui de l'acide.

Ainsi, la fonction alcool exerce une influence nettement déprimante sur le pouvoir antiseptique. H. Jennsen (321) est du même avis ; d'après lui, l'aldéhyde salicylique est supérieur au saligénol ; de même l'alcool thymotinique a un coefficient très faible comparé à celui du thymol.

Macht et Satani (410), Swartz (521), Macht et Hill (409), qui ont étudié les propriétés antibactériennes de l'alcool benzylique et de ses esters et de l'aldéhyde benzylique ont trouvé que le benzaldéhyde est plus actif que l'alcool correspondant, les esters étant par ailleurs très peu actifs.

A. D. Hirschfelder et ses élèves (313, 314) affirment également que l'introduction d'un reste CH_2OH dans le phénol (saligénol) diminue notablement l'action antiseptique. Il en est de même pour le p-énésol (homosaligénol), qui est encore plus faible que le saligénol. L'introduction d'un deuxième CH_2OH dans le p-énésol semble supprimer l'action antibactérienne.

Il paraît donc bien établi que des trois fonctions envisagées, les corps étant pris en solution aqueuse et à l'état libre, c'est la fonction alcool-phénol qui est la moins active.

A. — DESCRIPTION ET RESULTATS DES ESSAIS DE CONSERVATION

Nos essais de conservation ont porté sur les liquides suivants : *eau peptonée* à 5 p. 100, *urine*, *sérum de cheval*, li-

guide de Raulin, solution tampon de $\text{pH}=5$ (solution de Clark et Lubs : phtalate acide de potassium N/5 : 50 cm^3 ; OHNa N/5 : 23 cm^3 85; eau distillée q. s. p. 200 cm^3), *solution d'émétique* à 15 p. 100, *solution de glucose* à 5 p. 100 (au point de vue de l'empêchement des microorganismes), *solution de glucose* à 10 p. 100 (au point de vue de l'empêchement de la fermentation alcoolique).

Nous avons pour chaque expérience disposé une série de flacons dans lesquels nous avons pesé la quantité voulue de l'antiseptique, finement pulvérisé pour les corps solides, et introduit ensuite 100 cm^3 du liquide étudié. Chaque flacon a été agité très fréquemment pendant les premières 48 heures, puis de temps à autre pendant les jours suivants pour saturer autant que possible le liquide avec l'antiseptique dès le début de l'épreuve. L'ensemencement spontané des milieux à l'air libre, déjà réalisé au cours de leur préparation, qui était effectuée sans aucune précaution d'asepsie, était renouvelé en les débouchant de loin en loin pendant quelques heures et refermant ensuite pour éviter la concentration du liquide. Pour trois séries d'essais toutefois, il a été procédé en outre à des ensemencements artificiels : les solutions tampon de $\text{pH}=5$ et les solutions d'émétique ont étéensemencées avec des germes prélevés sur des solutions semblables se trouvant au laboratoire et qui avaient été le siège d'une abondante végétation de microorganismes (*Penicillium* principalement), les solutions de glucose à 10 p. 100 destinées à l'étude de l'empêchement de la fermentation alcoolique ont étéensemencées avec de la levure de bière fraîche.

Les résultats sont donnés dans les tableaux suivants. Le signe + marque une poussée de microorganismes avec altération manifeste ; sa répétition ++ ou +++ indique une poussée plus importante que pour les témoins ou pour les autres essais de la même série. Le signe — indique : pas

d'altération *apparente*. Dans les cas douteux un examen microscopique direct ou une culture ont été effectués. Dans la colonne : *durée des observations*, sont notés les temps pendant lesquels les flacons ont été observés. Dans tel flacon en effet il a pu se produire un début de poussée enrayé de suite par la présence de l'antiseptique ; dans tel autre la poussée a pu être très lente et nécessiter plusieurs infections successives pour se manifester nettement ; tel autre enfin, qui était resté longtemps stérile, a pu être l'objet au bout de plusieurs mois de l'invasion de moisissures. Nous avons donc jugé utile d'indiquer pour chaque essai la durée de l'observation jusqu'à certitude d'altération ou de conservation, les temps d'observation maxima ayant été de 12 mois.

Dans les tableaux suivants, les résultats mentionnés correspondent chacun à deux expériences (et parfois à trois). Pour éviter d'allonger une énumération déjà très étendue, nous avons condensé ces résultats de la façon suivante : quand les deux résultats ont été +, nous indiquons le temps de conservation le plus court, et le temps de conservation le plus long dans le cas de deux résultats —. Il nous est arrivé d'avoir un résultat + et un résultat — : dans ce cas nous les donnons tous les deux :

Tableau N° I

EAU PEPTONÉE 5 p. 100

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Phénol</i>	0,01	+++	5 jours
	0,02	+++	5 »
	0,05	++	5 »
	0,08	+	5 »
	0,10	+	10 »
	0,20	+	15 »
	0,30	—	4 mois
	0,40	—	4 »
	0,50	—	4 »
	0,60	—	4 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Acide salicylique</i>	0,10	+	15 jours
	0,15	+	1 mois
	0,30	—	12 »
	0,50	—	12 »
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,10	+	21 jours
	0,15	—	8 mois
	0,30	—	8 »
	0,50	—	12 »
» 5-bromosalicylique	0,10	+	1 mois
	0,15	+	1 »
	0,30	+	5 »
	0,50	—	12 »
» 5-iodosalicylique	0,10	++	1 mois
	0,15	++	2 »
	0,30	+	5 »
	0,50	—	12 »
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,10	++	1 mois
	0,15	++	1 »
	0,25	+	1 »
	0,30	+	1 »
	0,50	—	12 »
» 3-5-dibromosalicylique	0,10	+	2 mois
	0,15	+	1 »
	0,30	—	8 »
	0,50	—	12 »
» 3-5-diiodosalicylique	0,10	++	15 jours
	0,25	+	6 mois
	0,50	++	5 »
<i>Salicylate de méthyle</i>	0,02	++	15 jours
	0,05	+	15 »
	0,08	—	8 mois
	0,10	—	8 »
	0,20	—	8 »
5-chlorosalicylate de méthyle	0,10	++	15 jours
	0,50	+	15 »
5-bromosalicylate de méthyle	0,10	+	15 »
	0,50	++	15 »
5-iodosalicylate de méthyle	0,10	+++	9 »
	0,50	+++	9 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
3-5-dichlorosalicylate de méthyle .	0,10	++	7 jours
	0,50	++	7 »
3-5-dibromosalicylate de méthyle .	0,10	++	7 »
	0,50	++	7 »
3-5-diiodosalicylate de méthyle ...	0,10	+++	7 »
	0,50	+++	7 »
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,02	+	7 »
	0,05	+	20 »
	0,08	—	8 mois
	0,10	—	8 »
	0,20	—	8 »
<i>Aldéhyde</i> 5-chlorosalicylique	0,02	+	15 jours
	0,05	+	15 »
	0,08	+	2 mois
	0,10	—	8 »
	0,50	—	8 »
» 5-bromosalicylique	0,02	+	9 jours
	0,05	+	9 »
	0,08	+	9 »
	0,10	—	8 mois
	0,50	—	8 »
» 5-iodosalicylique	0,10	+	2 »
	0,50	+	2 »
<i>Aldéhyde</i> 3-5-dichlorosalicylique . .	0,10	+	2 »
	0,25	+	5 »
		—	9 »
	0,50	+	2 »
» 3-5-dibromosalicylique . .	0,10	+	2 »
	0,25	+	5 »
	0,50	+	5 »
» 3-5-diiodosalicylique.	0,10	+	9 jours
	0,25	+	9 »
	0,50	+	9 »
<i>Saligénol</i>	0,10	++	8 jours
	0,50	+	3 mois
5-chlorosaligénol	0,10	+	1 mois
	0,15	—	8 »
	0,30	—	8 »
	0,50	—	12 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
5-bromosaligénol	0,02	+	15 jours
	0,05	+	45 »
	0,08	—	45 »
	0,10	—	9 mois
	0,25	—	2 »
	0,50	—	8 »
5-iodosaligénol	0,10	—	8 »
	0,25	—	12 »
	0,50	—	1 »
3-5-dichlorosaligénol	0,10	—	4 »
	0,25	—	4 »
	0,50	—	9 jours
	0,02	—	15 »
	0,05	—	45 »
	0,08	—	8 mois
3-5-dibromosaligénol	0,10	—	8 »
	0,25	—	8 »
	0,50	—	45 jours
	0,10	—	15 »
	0,25	—	8 mois
	0,50	—	1 »
Diiodosaligénol	0,10	—	15 jours
	0,25	—	2 mois
	0,50	—	2 »
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle	0,05	—	15 jours
	0,10	—	1 mois
	0,15	—	2 »
	0,20	—	2 »
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle sodé ..	0,12	—	2 »
	0,24	—	4 »
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle	0,05	++	15 jours
	0,10	++	15 »
	0,15	++	15 »
	0,20	++	15 »
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle sodé ...	0,11	+++	1 mois
	0,22	+++	2 »

Autre expérience : produits dissous dans l'eau peptonée bouillante.

<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle	0,10	—	2 mois
	0,20	—	8 »
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle	0,10	—	2 »
	0,20	—	8 »

Tableau N° II

URINE

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Phénol</i>	0,01	+++	3 jours
	0,02	+++	3 »
	0,05	+++	3 »
	0,08	++	3 »
	0,10	++	3 »
	0,20	+	2 mois
	0,30	—	4 »
	0,40	—	4 »
	0,50	—	4 »
	0,60	—	4 »
<i>Acide salicylique</i>	0,10	+	1 »
	0,25	+	8 »
	0,50	—	12 »
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,10	+	45 jours
	0,25	+	2 mois
	✓	—	9 »
	0,50	—	12 »
» 5-bromosalicylique	0,10	+	2 »
	0,25	+	6 »
	0,50	—	12 »
» 5-iodosalicylique	0,10	+	45 jours
	0,25	+	6 mois
	0,50	—	12 »
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,10	+	45 jours
	0,25	+	2 mois
	0,50	+	5 »
	—	—	9 »
» 3-5-dibromosalicylique	0,10	+	2 »
	0,25	+	6 »
	0,50	—	12 »
» 3-5-diiodosalicylique	0,10	+	45 jours
	0,25	+	45 »
	0,50	+	2 mois
	—	—	12 »
<i>Salicylate de méthyle</i>	0,10	+	15 jours
	0,50	+	15 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
5-chlorosalicylate de méthyle	0,10	+	7 jours
	0,50	+	7 »
5-bromosalicylate de méthyle	0,10	++	7 »
	0,50	++	7 »
5-iodosalicylate de méthyle	0,10	++	7 »
	0,50	++	7 »
3-5-dichlorosalicylate de méthyle .	0,10	++	7 »
	0,50	++	7 »
3-5-dibromosalicylate de méthyle .	0,10	++	7 »
	0,50	++	7 »
3-5-diiodosalicylate de méthyle ...	0,10	+++	7 »
	0,50	+++	7 »
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,02	+	15 »
	0,05	+	1 mois
	0,08	+	3 »
	0,10	—	9 »
	0,20	—	9 »
<i>Aldéhyde 5-chlorosalicylique</i>	0,02	+	15 jours
	0,05	+	15 »
	0,08	+	2 mois
	0,10	—	12 »
	0,15	—	12 »
	0,30	—	12 »
» 5-bromosalicylique	0,50	—	12 »
	0,10	+	2 »
	0,15	+	2 »
	0,30	+	2 »
» 5-iodosalicylique	0,50	+	2 »
	0,10	++	15 jours
	0,15	++	2 mois
	0,30	+	2 »
<i>Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique</i> . .	0,50	+	2 »
	0,10	+	45 jours
	0,15	+	45 »
	0,30	+	3 mois
» 3-5-dibromosalicylique . .	0,50	+	5 »
	0,10	+	45 jours
	0,15	+	45 »
	0,30	+	5 mois
	0,50	+	5 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Aldéhyde</i> 3-5-diidosalicylique . . .	0,10	+	2 mois
	0,15	+	2 »
	0,30	+	5 »
	0,50	+	5 »
<i>Saligénol</i>	0,10	+	2 »
	0,50	+	8 »
5-chlorosaligénol	0,10	+	5 »
	0,25	+	5 »
	0,50	+	5 »
5-bromosaligénol	0,10	+	45 jours
	0,25	+	45 »
	0,50	+	5 mois
5-iodosaligénol	0,10	+	21 jours
	0,25	+	45 »
	0,50	+	2 mois
3-5-dichlorosaligénol	0,10	+	21 jours
	0,25	+	45 »
	0,50	+	45 »
3-5-dibromosaligénol	0,10	+	15 »
	0,25	+	15 »
	0,50	+	45 »
Diidosaligénol	0,10	+	15 »
	0,25	+	45 »
	0,50	+	45 »
<i>P-oxybenzoate de méthyle</i>	0,05	++	15 »
	0,10	++	1 mois
	0,15	+	2 »
	0,20	+	2 »
	0,50	—	6 »
<i>P-oxybenzoate de méthyle sodé</i> ..	0,12	++	7 jours
	0,24	++	2 mois
	0,60	—	6 »
<i>P-oxybenzoate de propyle</i>	0,05	++	15 jours
	0,10	++	15 »
	0,15	++	15 »
	0,20	++	15 »
	0,50	++	15 »
<i>P-oxybenzoate de propyle sodé</i> ...	0,11	++	15 »
	0,22	++	15 »
	0,55	++	15 »

Tableau N° III

SÉRUM DE CHEVAL

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Phénol</i>	0,01	+++	5 jours
	0,02	+++	5 »
	0,05	+++	5 »
	0,08	++	7 »
	0,10	++	13 »
	0,20	++	15 »
	0,30	+	30 »
	0,40	+	35 »
	0,50	+	35 »
	0,60	+	45 »
<i>Acide salicylique</i>	0,10	+++	10 jours
	0,50	++	10 »
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
» 5-bromosalicylique	0,10	+++	15 »
	0,50	++	30 »
» 5-iodosalicylique	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
» 3-5-dibromosalicylique	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
» 3-5-diiodosalicylique	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
<i>Salicylate de méthyle</i>	0,10	+++	5 »
	0,50	+++	5 »
5-chlorosalicylate de méthyle	0,10	+++	5 »
	0,50	+++	5 »
5-bromosalicylate de méthyle	0,10	+++	5 »
	0,50	+++	5 »
5-iodosalicylate de méthyle	0,10	+++	5 »
	0,50	+++	5 »
3-5-dichlorosalicylate de méthyle . .	0,10	+++	5 »
	0,50	+++	5 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
3-5-dibromosalicylate de méthyle .	0,10	+++	5 jours
	0,50	+++	5 »
3-5-diiodosalicylate de méthyle ...	0,10	+++	5 »
	0,50	+++	5 »
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,10	+++	10 »
	0,50	+++	20 »
<i>Aldéhyde</i> 5-chlorosalicylique	0,10	+++	10 »
	0,50	++	20 »
	0,75	+	60 »
» 5-bromosalicylique	0,10	+++	10 »
	0,50	++	20 »
	0,75	+	60 »
<i>Aldéhyde</i> 3-5-dichlorosalicylique . .	0,10	+++	10 »
	0,50	+++	15 »
» 3-5 dibromosalicylique . .	0,10	+++	10 »
	0,50	+++	15 »
» 3-5-diiodosalicylique. . . .	0,10	+++	10 »
	0,50	+++	15 »
<i>Saligénol</i>	0,10	+++	10 »
	0,50	++	25 »
5-chlorosaligénol	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
5-bromosaligénol	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
5-iodosaligénol	0,10	+++	10 »
	0,50	++	20 »
3-5-dichlorosaligénol	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
3-5-dibromosaligénol	0,10	+++	10 »
	0,50	++	30 »
Diiodosaligénol	0,10	+++	10 »
	0,50	+++	10 »
<i>P-oxybenzoate de méthyle</i>	0,10	+++	10 »
	0,20	+++	10 »
	0,50	++	15 »
	0,75	+	30 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
P-oxybenzoate de méthyle sodé ..	0,12	+++	10 jours
	0,24	+++	10 »
	0,60	++	30 »
	0,85	+	35 »
<i>P-oxybenzoate de propyle</i>	0,10	+++	5 »
	0,20	+++	5 »
	0,50	+++	10 »
	0,75	+++	10 »
P-oxybenzoate de propyle sodé ...	0,11	+++	5 »
	0,22	+++	5 »
	0,55	+++	10 »
	0,80	+++	10 »

Tableau N° IV

LIQUIDE DE RAULIN

<i>Phénol</i>	0,01	+++	10 jours
	0,02	+++	10 »
	0,05	++	10 »
	0,08	+	10 »
	0,10	+	15 »
	0,20	—	4 mois
	0,30	—	4 »
	0,40	—	4 »
	0,50	—	4 »
	0,60	—	4 »
<i>Acide salicylique</i>	0,02	+	12 jours
	0,05	++	2 mois
	0,08	—	10 »
	0,10	+	6 »
	—	—	12 »
	0,25	—	12 »
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,50	—	12 »
	0,02	+	15 jours
	0,05	—	12 mois
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Acide 5-bromosalicylique</i>	0,02	+	15 jours
	0,05	—	12 mois
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
» <i>5-iodosalicylique</i>	0,01	+	1 »
	0,02	+	9 »
		—	12 »
	0,05	—	12 »
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,02	+	15 jours
	0,05	—	12 mois
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
» <i>3-5-dibromosalicylique</i>	0,02	+	15 jours
	0,05	—	12 mois
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
» <i>3-5-diiodosalicylique</i>	0,10	+	2 mois
		+	7 »
		—	12 »
	0,15	+	7 »
		—	9 »
		—	12 »
	0,20	—	12 »
	0,50	—	12 »
<i>Salicylate de méthyle</i>	0,02	+	15 jours
	0,05	+	2 mois
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,20	—	12 »
<i>5-chlorosalicylate de méthyle</i>	0,10	+	15 jours
	0,50	+	2 mois
<i>5-bromosalicylate de méthyle</i>	0,10	++	15 jours
	0,50	++	15 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
5-iodosalicylate de méthyle	0,10	+++	10 jours
	0,50	+++	10 »
3-5-dichlorosalicylate de méthyle .	0,10	++	10 »
	0,50	++	15 »
3-5-dibromosalicylate de méthyle .	0,10	++	15 »
	0,50	+	1 mois
3-5-diiodosalicylate de méthyle ...	0,10	++	15 jours
	0,50	+	2 mois
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,02	+	2 »
	0,05	—	12 »
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
<i>Aldéhyde</i> 5-chlorosalicylique	0,005	+	9 »
	0,01	—	9 »
	0,02	—	12 »
	0,05	—	12 »
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
» 5-bromosalicylique	0,005	+	9 »
	0,01	—	9 »
	0,02	—	12 »
	0,05	—	12 »
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
» 5-iodosalicylique	0,02	++	15 jours
	0,05	++	15 »
	0,08	++	2 mois
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
<i>Aldéhyde</i> 3-5-dichlorosalicylique . .	0,02	++	2 »
	0,05	—	12 »
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER. VATIONS
<i>Aldéhyde</i> 3-5-dibromosalicylique . .	0,01	+	9 mois
	0,02	+	9 »
		—	12 »
	0,05	—	12 »
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »
3-5-diiodosalicylique. . . .	0,10	++	1 »
	0,20	++	2 »
	0,25	++	2 »
	0,50	+	4 »
		—	12 »
<i>Saligénol</i>	0,10	++	10 jours
	0,20	++	8 »
	0,40	+	1 mois
	0,50	—	12 »
5-chlorosaligénol	0,10	++	2 »
	0,20	—	12 »
	0,25	—	12 »
	0,50	—	12 »
5-bromosaligénol	0,02	++	5 jours
	0,05	++	15 »
	0,08	+	2 mois
	0,10	+	2 »
		—	12 »
	0,25	—	12 »
	0,50	—	12 »
5-iodosaligénol	0,02	++	5 jours
	0,05	++	8 »
	0,08	+	15 »
	0,10	+	1 mois
		—	12 »
	0,25	—	12 »
	0 50	—	12 »
3-5-dichlorosaligénol	0,02	++	2 »
	0,05	+	2 »
	0,08	—	12 »
	0,10	—	12 »
	0,50	—	12 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
3-5-dibromosaligénol	0,02	++	15 jours
	0,05	+	2 mois
		---	9 »
	0,08	---	12 »
	0,10	---	12 »
	0,50	---	12 »
Diiodosaligénol	0,02	++	15 jours
	0,05	++	2 mois
	0,08	+	2 »
	0,10	++	4 »
		---	12 »
	0,20	---	12 »
	0,50	---	12 »
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle	0,05	+	15 jours
	0,10	+	6 mois
	0,15	--	12 »
	0,20	+	3 »
		---	12 »
	0,50	---	12 »
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle sodé . .	0,12	++	2 »
	0,24	--	12 »
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle	0,05	+	5 »
	0,10	+	5 »
	0,15	+	6 »
	0,20	+	6 »
	0,50	+	6 »
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle sodé . . .	0,11	++	2 »
	0,22	+++	6 »

Autre expérience : produits dissous dans le liquide de Raulin
bouillant.

<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle	0,10	---	6 mois
	0,20	---	6 »
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle	0,05	++	45 jours
	0,10	++	45 »
	0,20	++	45 »

Tableau N° V

SOLUTION TAMPON pH=5

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Phénol</i>	0,01	+++	1 mois
	0,02	+++	1 »
	0,05	+++	1 »
	0,08	++	1 »
	0,10	++	1 »
	0,20	—	4 »
	0,30	—	4 »
	0,40	—	4 »
	0,50	—	4 »
	0,60	—	4 »
<i>Acide salicylique</i>	0,10	+++	3 »
	0,25	+	9 »
	0,50	—	12 »
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,10	+	9 »
	0,25	+	9 »
	0,50	—	12 »
» <i>5-bromosalicylique</i>	0,10	+	9 »
	0,25	+	9 »
	0,50	—	12 »
» <i>5-iodosalicylique</i>	0,10	++	9 »
	0,50	+	9 »
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,10	++	9 »
	0,50	+	9 »
» <i>3-5-dibromosalicylique</i>	0,10	++	9 »
	0,50	+	9 »
» <i>3-5-diiodosalicylique</i>	0,10	++	9 »
	0,25	—	12 »
	0,50	—	12 »
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,01	+	1 »
	0,02	+	1 »
	0,05	+	1 »
	0,08	+	3 »
	0,10	—	9 »
	0,20	—	9 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Aldéhyde 5-chlorosalicylique</i>	0,01	+	3 mois
	0,05	+	3 »
	0,08	—	9 »
	0,10	—	12 »
	0,20	—	12 »
» 5-bromosalicylique	0,01	+	3 »
	0,05	+	3 »
	0,08	—	9 »
	0,10	—	12 »
	0,20	—	12 »
» 5-iodosalicylique	0,10	+	3 »
	0,25	—	9 »
<i>Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique . .</i>	0,10	+	4 »
	0,25	+	6 »
» 3-5-dibromosalicylique . .	0,10	+	4 »
	0,25	+	6 »
» 3-5-diiodosalicylique. . . .	0,10	+	6 »
	0,25	—	9 »
<i>Saligénol</i>	0,25	+	5 »
	0,50	+	5 »
5-chlorosaligénol	0,10	+	5 »
	0,25	+	5 »
	0,50	+	5 »
5-bromosaligénol	0,10	+	5 »
	0,25	+	5 »
	0,50	+	5 »
5-iodosaligénol	0,10	+	5 »
	0,50	+	5 »
3-5-dichlorosaligénol	0,10	+	5 »
	0,50	+	5 »
3-5-dibromosaligénol	0,10	+	5 »
	0,50	+	5 »
Diiodosaligénol	0,10	+	5 »
	0,50	+	5 »
<i>P-oxybenzoate de méthyle</i>	0,10	+	4 »
	0,20	+	6 »
	0,50	—	12 »
<i>P-oxybenzoate de propyle</i>	0,10	+	4 »
	0,20	+	6 »
	0,50	—	12 »

Tableau N° VI

SOLUTION D'ÉMÉTIQUE (15 p. 100)

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTAT	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Phénol</i>	0,01	++	1 mois
	0,02	++	1 »
	0,05	+	1 »
	0,08	+	1 »
	0,10	—	6 »
	0,20	—	6 »
	0,30	—	6 »
	0,40	—	6 »
	0,50	—	6 »
	0,60	—	6 »
<i>Acide salicylique</i>	0,01	+++	1 »
	0,02	++	1 »
	0,05	+	1 »
	0,08	—	6 »
	0,10	—	6 »
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,01	+++	1 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
» <i>5-bromosalicylique</i>	0,01	+++	1 »
	0,05	+	3 »
	0,10	+	4 »
	0,20	—	6 »
» <i>5-iodosalicylique</i>	0,01	+++	1 »
	0,05	+	4 »
	0,10	—	6 »
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,01	+++	1 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
» <i>3-5-dibromosalicylique</i>	0,01	+++	1 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
» <i>3-5-diiodocalicylique</i>	0,01	+++	1 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,005	—	6 mois
	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
<i>Aldéhyde 5-chlorosalicylique</i>	0,005	—	6 »
	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
» 5-bromosalicylique	0,005	—	6 »
	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
» 5-iodosalicylique	0,005	+	2 »
	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
<i>Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique</i> . .	0,005	+	3 »
	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
» 3-5-dibromosalicylique . .	0,005	—	6 »
	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
» 3-5-diiodosalicylique	0,005	+	3 »
	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
<i>Saligénol</i>	0,01	+++	1 »
	0,05	+++	1 »
	0,10	+++	1 »
	0,25	—	6 »
	0,50	—	6 »
5-chlorosaligénol	0,01	+	2 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
5-bromosaligénol	0,01	+	2 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
5-iodosaligénol	0,01	+	2 mois
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
3-5-dichlorosaligénol	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
3-5-dibromosaligénol	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
Diiodosaligénol	0,01	—	6 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle (dissolution à chaud)	0,01	+++	1 »
	0,02	++	2 »
	0,05	—	6 »
	0,10	—	6 »
	0,15	—	6 »
	0,20	—	6 »
P-oxybenzoate de méthyle sodé ..	0,12	—	6 »
	0,24	—	6 »
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle (dissolution à chaud)	0,05	+	2 »
	0,10	—	6 »
	0,15	—	6 »
	0,20	—	6 »
P-oxybenzoate de propyle sodé ...	0,11	—	6 »
	0,22	—	6 »

Tableau N° VII

SOLUTION DE GLUCOSE A 5 P. 100

(Empêchement du développement des microorganismes.)

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Phénol</i>	0,01	+++	10 jours
	0,02	+++	10 »
	0,05	+++	10 »
	0,08	++	10 »
	0,10	++	10 »
	0,20	—	4 mois
	0,30	—	4 »
	0,40	—	4 »
	0,50	—	4 »
	0,60	—	4 »
<i>Acide salicylique</i>	0,10	+	2 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,10	+	5 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »
» <i>5-bromosalicylique</i>	0,10	+	2 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »
» <i>5-iodosalicylique</i>	0,10	+	5 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,10	+	2 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »
» <i>3-5-dibromosalicylique</i>	0,01	++	2 »
	0,05	—	9 »
	0,10	—	9 »
	0,50	—	9 »
» <i>3-5-diiodosalicylique</i>	0,10	++	2 »
	0,50	+	6 »
<i>Salicylate de méthyle</i>	0,10	++	10 jours
	0,50	+	1 mois

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
5-chlorosalicylate de méthyle	0,10	++	1 mois
	0,50	+	3 »
5-bromosalicylate de méthyle	0,10	++	1 »
	0,50	++	1 »
5-iodosalicylate de méthyle	0,10	++	1 »
	0,50	++	1 »
3-5-dichlorosalicylate de méthyle .	0,10	++	1 »
	0,50	++	1 »
3-5-dibromosalicylate de méthyle .	0,10	++	1 »
	0,50	+	2 »
3-5-diiodosalicylate de méthyle . . .	0,10	++	1 »
	0,50	+	2 »
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,01	—	9 »
	0,05	—	9 »
	0,08	—	9 »
	0,10	—	9 »
	0,50	—	9 »
<i>Aldéhyde</i> 5-chlorosalicylique	0,01	—	9 »
	0,05	—	9 »
	0,08	—	9 »
	0,10	—	9 »
	0,50	—	9 »
» 5-bromosalicylique	0,01	—	9 »
	0,05	—	9 »
	0,08	—	9 »
	0,10	—	9 »
	0,50	—	9 »
» 5-iodosalicylique	0,10	+	2 »
	0,50	+	3 »
<i>Aldéhyde</i> 3-5-dichlorosalicylique . .	0,10	+	2 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »
» 3-5-dibromosalicylique . .	0,10	+	2 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »
» 3-5-diiodosalicylique	0,10	+	3 »
	0,25	—	9 »
	0,50	—	9 »

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	RÉSULTATS	DURÉE DES OBSER- VATIONS
<i>Saligénol</i>	0,10	++	1 mois
	0,50	++	1 »
5-chlorosaligénoï	0,10	++	1 »
	0,50	+	2 »
5-bromosaligénoï	0,10	++	1 »
	0,50	+	1 »
		—	6 »
5-iodosaligénol	0,10	++	1 »
	0,50	—	9 »
3-5-dichlorosaligénol	0,10	++	1 »
	0,50	++	1 »
3-5-dibromosaligénol	0,10	++	1 »
	0,50	+	1 »
Diiodosaligénol	0,10	++	1 »
	0,50	+	1 »
<i>P-oxybenzoate de méthyle</i>	0,05	+	2 »
	0,10	+	2 »
	0,15	+	2 »
	0,20	—	9 »
	0,50	—	9 »
<i>P-oxybenzoate de méthyle sodé</i> ..	0,12	++	15 jours
	0,24	+	15 »
	0,60	+	2 mois
<i>P-oxybenzoate de propyle</i>	0,05	++	2 »
	0,10	+	2 »
	0,15	—	9 »
	0,20	+	6 »
	0,50	—	9 »
<i>P-oxybenzoate de propyle sodé</i> ...	0,11	++	15 jours
	0,27	++	15 »
	0,55	+	2 mois

Tableau N° VIII

EMPÊCHEMENT DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Solution de glucose ensemencée, après addition des produits antiseptiques, avec 0 g., 10 de levure fraîche p. 100 cm³. Sucre initial, dosé par la méthode de G. Bertrand (13) : 9 g., 675 p. 100 cm³. Durée de l'expérience : 4 mois.

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	SUCRE RESTANT p. 100 (gram.)	SUCRE DISPARU p. 100 (gram.)
<i>Témoin</i>		0	9,675
<i>Phénol</i>	0,01	3,725	5,950
	0,02	6,352	3,323
	0,05	6,682	2,993
	0,08	6,459	3,216
	0,10	8,034	1,641
	0,20	8,159	1,516
	0,30	8,274	1,401
	0,40	8,501	1,174
	0,50	8,274	1,401
	0,60	8,159	1,516
<i>Acide salicylique</i>	0,10	9,675	0
	0,25	9,354	0,321
	0,50	9,466	0,209
<i>Acide 5-chlorosalicylique</i>	0,10	9,466	0,209
	0,25	9,576	0,099
	0,50	9,466	0,209
» <i>5-bromosalicylique</i>	0,10	9,466	0,209
	0,25	9,675	0
	0,50	9,675	0
» <i>5-iodosalicylique</i>	0,10	9,466	0,209
	0,25	9,576	0,099
	0,50	9,466	0,209
<i>Acide 3-5-dichlorosalicylique</i>	0,10	9,354	0,321
	0,25	9,466	0,209
	0,50	9,576	0,099
» <i>3-5-dibromosalicylique</i>	0,10	9,244	0,431
	0,25	9,466	0,209
	0,50	9,466	0,209

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	SUCRE RESTANT p. 100 (gram.)	SUCRE DISPARU p. 100 (gram.)
<i>Acide 3-5-diiodosalicylique.</i>	0,10	7,400	2,275
	0,25	7,726	1,949
	0,50	7,200	2,475
<i>Salicylate de méthyle</i>	0,05	6,682	2,993
	0,10	8,613	1,062
	0,30	8,842	0,833
	0,50	8,967	0,708
<i>5-chlorosalicylate de méthyle</i>	0,10	3,190	6,485
	0,50	4,704	4,971
<i>5-bromosalicylate de méthyle</i>	0,10	0	9,675
	0,50	0,857	8,818
<i>5-iodosalicylate de méthyle</i>	0,10	0	9,675
	0,50	4,600	5,075
<i>3-5-dichlorosalicylate de méthyle</i>	0,10	4,904	4,771
	0,50	2,400	7,275
<i>3-5-dibromosalicylate de méthyle</i>	0,10	0	9,675
	0,50	0	9,675
<i>3-5-diiodosalicylate de méthyle</i>	0,10	0	9,675
	0,50	4,704	4,971
<i>Aldéhyde salicylique</i>	0,10	9,144	0,531
	0,25	9,466	0,209
	0,50	9,675	0
<i>Aldéhyde 5-chlorosalicylique</i>	0,01	5,243	4,432
	0,02	6,352	3,323
	0,05	6,569	3,106
	0,08	8,274	1,401
	0,10	8,928	0,747
	0,25	9,244	0,431
	0,50	9,466	0,209
	0,50	9,033	0,642
* <i>5-bromosalicylique</i>	0,01	3,611	6,064
	0,02	6,569	3,106
	0,05	8,034	1,641
	0,08	8,842	0,833
	0,10	8,613	1,062
	0,25	8,928	0,747
	0,50	9,033	0,642

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	SUCRE RESTANT p. 100 (gram.)	SUCRE DISPARU p. 100 (gram.)
<i>Aldéhyde 5-iodosalicylique.</i>	0,01	0,135	4,540
	0,02	7,924	1,751
	0,05	8,613	1,062
	0,08	8,501	1,174
	0,10	8,932	0,743
	0,50	9,144	0,531
<i>Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique . .</i>	0,01	5,900	3,775
	0,02	7,817	1,858
	0,05	9,086	0,589
	0,08	8,842	0,833
	0,10	9,086	0,589
	0,25	9,244	0,431
	0,50	9,466	0,209
» 3-5-dibromosalicylique . .	0,01	6,007	3,668
	0,02	8,388	1,287
	0,05	9,207	0,468
	0,08	8,967	0,708
	0,10	9,546	0,129
	0,25	9,354	0,321
	0,50	9,576	0,099
» 3-5-diiodosalicylique	0,10	7,620	2,055
	0,25	8,055	1,620
	0,50	8,488	1,187
<i>Saligénol</i>	0,10	5,504	4,171
	0,25	4,926	4,749
	0,50	7,726	1,949
<i>5-chlorosaligénol</i>	0,10	7,300	2,375
	0,15	8,388	1,287
	0,20	9,086	0,589
	0,25	9,319	0,356
	0,30	9,434	0,241
	0,50	9,354	0,321
<i>5-bromosaligénol</i>	0,10	8,376	1,299
	0,15	9,207	0,468
	0,20	9,207	0,468
	0,25	9,207	0,468
	0,30	9,207	0,468
	0,50	9,144	0,531

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	SUCRE RESTANT p. 100 (gram.)	SUCRE DISPARU p. 100 (gram.)
5-iodosaligénol	0.10	7.200	2.475
	0.25	8.588	1.087
	0.50	9.033	0.642
3-5-dichlorosaligénol	0.01	7.023	2.652
	0.02	7.365	2.310
	0.05	7.705	1.970
	0.08	8.967	0.708
	0.10	9.207	0.468
	0.25	9.354	0.321
3-5-dibromosaligénol	0.50	9.466	0.209
	0.01	6.682	2.993
	0.02	7.817	1.858
	0.05	9.207	0.468
	0.08	9.319	0.356
	0.10	9.207	0.468
Diiodosaligénol	0.25	9.466	0.209
	0.50	9.354	0.321
	0.01	7.251	2.424
	0.02	7.817	1.858
	0.05	8.034	1.641
	0.08	7.471	2.204
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle (dissolution à froid)	0.10	9.033	0.642
	0.25	9.144	0.531
	0.50	9.244	0.431
	0.05	4.704	4.971
	0.10	7.833	1.842
	0.15	8.488	1.187
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle (dissolution à l'ébullition)	0.20	8.376	1.299
	0.25	8.154	1.521
	0.50	8.376	1.299
	0.05	5.900	3.775
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle sodé ..	0.10	7.592	2.083
	0.15	8.034	1.641
	0.20	8.932	0.743
	0.25	9.086	0.589
	0.50	8.613	1.062
<i>P</i> -oxybenzoate de méthyle sodé ..	0.15	3.938	5.737
	0.30	7.817	1.858
	0.60	8.842	0.833

PRODUITS	DOSES p. 100 (gram.)	SUCRE RESTANT p. 100 (gram.)	SUCRE DISPARU p. 100 (gram.)
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle	0,05	8,054	1,621
(dissolution à froid)	0,10	8,376	1,299
	0,15	8,266	1,409
	0,20	8,266	1,409
	0,25	8,154	1,521
	0,50	7,932	1,743
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle	0,05	8,613	1,062
(dissolution à l'ébullition)	0,10	8,159	1,516
	0,15	8,159	1,516
	0,20	8,034	1,641
	0,25	8,388	1,287
	0,50	8,159	1,516
<i>P</i> -oxybenzoate de propyle sodé ...	0,11	7,200	2,475
	0,27	8,154	1,521
	0,55	8,488	1,187

B. — DISCUSSION DES RESULTATS

REMARQUE IMPORTANTE.

Avant de procéder à l'examen détaillé de ces tableaux, une remarque d'ordre général s'impose à l'esprit. Etant donnée la très faible solubilité dans l'eau de la plupart des dérivés étudiés (pour certains on pourrait même dire la quasi-insolubilité), comment expliquer que des doses de 0 g., 25 ou 0 g.,50 aient eu dans bien des cas une action plus efficace qu'une dose de 0 g., 10 p. ex., alors que théoriquement la saturation devait déjà être atteinte avec cette dose de 0 g., 10 et même moins ? On peut admettre évidemment que les milieux utilisés ont pu dissoudre des quantités de corps un peu plus élevées que l'eau pure, mais ces quantités n'ont certainement pas dépassé dans bien des cas quelques centigrammes par litre. Il est donc probable qu'avec un grand excès d'antiseptique, employé à l'état solide, la saturation du liquide est at-

teinte plus facilement. Il est possible aussi qu'il se passe pour ces corps ce que J. Schumacher (510) a observé pour la base du bleu victoria, qui malgré sa quasi-insolubilité dans l'eau arrive cependant à s'accumuler dans le protoplasma des bactéries ; le liquide s'appauvrissant de la sorte, de nouvelles quantités de substance passent en solution et les bactéries peuvent par ce processus fixer des doses appréciables de colorant. Rappelons encore que Chick et Martin (212), Massey (411), Sheridan Délépine (239) ont autrefois constaté que des émulsions d'un produit pouvaient être plus actives que des solutions aqueuses.

Cette remarque faite, voyons maintenant, d'après les résultats consignés dans les tableaux précédents, quelle a été la valeur des corps étudiés quant à la conservation des milieux mis en expérience.

1° Eau peptonée.

Dans le tableau n° I (eau peptonée à 5 p. 100, p. 217), nous voyons que le phénol, quoique agissant à l'état de solution complète, n'a été efficace qu'à la dose de 0 gr., 30 p. 100 ; l'acide salicylique, bien qu'incomplètement dissous, a agi sensiblement à cette même dose de 0 g., 30 p. 100.

Parmi les acides halogénés, l'acide 5-chloro- a été le plus actif (0,15) et l'acide diiodosalicylique s'est montré sans aucun pouvoir. L'acide 3-5-dibromo- a agi à une dose un peu plus faible que l'acide 5-bromo- (0,30 et 0,50).

Pour l'eau peptonée, comme d'ailleurs pour tous les autres milieux expérimentés, les esters méthylsalicyliques halogénés n'ont manifesté aucun pouvoir de conservation.

L'aldéhyde salicylique, ainsi que ses dérivés monochloré et monobromé, ont été très actifs (0,08 et 0,10), les aldéhydes dihalogénés correspondants ne présentant au contraire aucun avantage. Quant aux aldéhydes mono-et diodé, comme nous l'observerons dans la plupart des cas, leur trop grande insolubilité ne leur a pas permis d'agir.

Le saligénol n'a pas pu empêcher l'altération ; par contre le 5-chlorosaligénol a agi dès la dose de 0 g., 15, à l'état de solution parfaite. Les autres saligénols mono-et dihalogénés n'ont donné que des résultats négatifs ou contradictoires.

Employés dans les mêmes conditions (dissolution à froid), les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle, de même que leurs dérivés sodés, qui d'ailleurs laissaient précipiter l'ester à l'état libre (saturation du sodium par les acides aminés) n'ont pas donné de résultats favorables. Par contre dissous dans l'eau bouillante, ces produits ont été efficaces à la dose de 0 g., 20 p. 100.

Nous retiendrons comme ayant donné les meilleurs résultats pour la conservation de l'eau peptonée : l'acide 5-chlorosalicylique, le salicylate de méthyle, l'aldéhyde salicylique et ses dérivés monochloré et monobromé et enfin le 5-chlorosaligénol.

2° *Urine.*

L'urine (tableau n° II, p. 221) a été conservée par 0 g., 30 de phénol, 0 g., 50 d'acide salicylique, 0 g., 10 d'aldéhyde salicylique et 0 g., 10 d'aldéhyde 5-chlorosalicylique.

Comparativement, il a fallu pour obtenir le même résultat : 0 g., 50 d'acide 5-chlorosalicylique (un + et un — avec 0 g., 25), ainsi que des acides 5-bromosalicylique et 5-iodosalicylique. Pour les acides dichloro- et diiodosalicyliques, les résultats ont été contradictoires avec 0 g., 50, par contre l'acide dibromosalicylique a assuré la conservation à cette même dose de 0 g., 50 p. 100.

Le p-oxybenzoate de méthyle et son dérivé sodé, aux doses respectives de 0 g., 50 et 0 g., 60, ont permis la conservation, tandis que le p-oxybenzoate de propyle a tout au plus retardé l'altération pendant quelques jours seulement.

3° *Sérum de cheval.*

Aucun des produits utilisés n'a permis la conservation du

sérum de cheval (tableau n° III, p. 224), employé sans stérilisation préalable. Les retards les plus importants à l'apparition d'une altération microbienne ont été observés avec le phénol à la dose de 0 g., 60, les aldéhydes 5-chlorosalicylique et 5-bromosalicylique chacun à la dose de 0 g., 75. Beaucoup de corps d'ailleurs provoquaient une floculation plus ou moins abondante des albuminoïdes, les acides notamment.

4° *Liquide de Raulin.*

Pour le liquide de Raulin (tableau n° IV, p. 226), le phénol a agi à la dose de 0 g., 20 p. 100 et l'acide salicylique à partir de 0 g., 10 p. 100. Les acides salicyliques mono- et dihalogénés ont empêché le développement des moisissures à partir de 0 g., 05 p. 100, sauf l'acide diiodé qui n'a agi qu'à partir de 0 g., 20 p. 100.

Le salicylate de méthyle a été efficace à partir de 0 g., 08. Les esters méthylsalicyliques halogénés se sont montrés dénués d'action, tout au plus ont-ils retardé la poussée de quelques jours. Les retards les plus accentués s'observent avec les 5-chloro-, 3-5-dibromo- et 3-5-diiodosalicylates de méthyle (de 15 jours à 2 mois).

Pour l'aldéhyde salicylique, nous trouvons la dose inhibitrice égale à 0 g., 05 et pour ses dérivés monochloré et monobromé la dose de 0 g., 01 p. 100. L'aldéhyde 5-iodosalicylique a arrêté le développement à 0 g., 10 et les aldéhydes dichloro- et dibromo- à 0 g., 05.

Le saligénol n'a préservé le milieu qu'à la dose de 0 g., 50; le 5-chlorosaligénol à 0 g., 20, les 5-bromo- et 5-iodo- à 0 g., 25; le dichlorosaligénol et le dibromosaligénol se sont montrés actifs à la dose de 0 g., 08 et le diiodosaligénol à celle de 0 g., 20 p. 100.

Employé dans les mêmes conditions le p-oxybenzoate de méthyle a fourni des résultats contradictoires avec les doses de 0 g., 15 et 0 g., 20 (deux résultats — avec 0 g., 15, un + et un — avec 0 g., 20). Par contre avec 0 g., 50 le liquide est

resté indemne. Le dérivé sodé a empêché à la dose de 0 g., 24. Le p-oxybenzoate de propyle et son dérivé sodé ont été inefficaces. — Dissous dans le liquide bouillant, le p-oxybenzoate de méthyle s'est montré actif déjà à 0 g., 10, tandis que le p-oxybenzoate de propyle n'a eu qu'une simple action retardatrice. Il faut noter toutefois que dans ce cas les moisissures ont commencé à se former le long des parois du flacon au-dessus de la surface du liquide.

Nous devons donc constater la très grande efficacité de la plupart des corps étudiés, et plus spécialement des aldéhydes halogénés, pour la conservation du liquide de Raulin.

5° *Solution tampon pH=5.*

Dans le tableau n° V, p. 231, nous voyons qu'une solution tampon de pH=5, qui est d'ordinaire rapidement le siège d'une importante végétation, a été préservée par 0 g., 20 de phénol, 0 g., 50 des acides salicylique, 5-chloro- et 5-bromosalicyliques, 0 g., 25 d'acide 3-5-diiodosalicylique, 0 g., 10 d'aldéhyde salicylique, 0 g., 08 des aldéhydes 5-chloro- et 5-bromosalicyliques, 0 g., 25 d'aldéhyde 5-iodo- et d'aldéhyde 3-5-diiodosalicylique.

Les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle n'ont agi qu'à la dose de 0 g., 50.

6° *Solution d'émétique.*

Une solution d'émétique à 15 % (tableau n° VI, p. 233) a été préservée de toute végétation par 0 g., 10 de phénol, 0 g., 08 d'acide salicylique, 0 g., 10 d'acide 5-chloro- et 5-iodosalicylique, 0 g., 20 d'acide 5-bromosalicylique, 0 g., 05 de chacun des trois acides dihalogénés.

L'aldéhyde salicylique et ses dérivés monochloré et monobromé ainsi que le dérivé dibromé ont conservé la même solution à la dose de 0 g., 005 p. 100, les aldéhydes monoiodé, dichloré et diiodé à la dose de 0 g., 01 p. 100.

Il a fallu 0 g., 25 de saligénol, tandis que les trois mono-

halogénosaligénols ont agi à la dose de 0 g., 05 et les trois dihalogénosaligénols à la dose de 0 g., 01 p. 100.

Les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle se sont montrés efficaces aux doses respectives de 0 g., 05 et 0 g., 10 (dissolution à chaud).

7° *Solution de glucose (microorganismes).*

L'empêchement du développement des microorganismes dans une solution de glucose à 5 p. 100 (tableau n° VII, p. 236) a été réalisé par 0 g., 20 de phénol, 0 g., 25 d'acide salicylique et de ses dérivés monohalogénés, ainsi que d'acide 3-5-dichlorosalicylique, 0 g., 05 d'acide 3-5-dibromosalicylique ; l'acide 3-5-diiodosalicylique a été inefficace même avec 0 g., 50.

Le salicylate de méthyle et les esters méthylsalicyliques halogénés n'ont pu que retarder l'apparition des premiers germes sans l'éviter complètement (retard maximum 3 mois avec le 5-chlorosalicylate de méthyle).

Le saligénol et les halogénosaligénols se sont montrés impropres, sauf le 5-iodosaligénol qui a assuré la conservation avec 0 g., 50 et le 5-bromosaligénol qui a donné un résultat favorable (sur deux expériences) avec cette même dose.

Le p-oxybenzoate de méthyle a agi à la dose de 0 g., 20 et le p-oxybenzoate de propyle a donné des résultats un peu irréguliers (— avec 0 g., 15, + avec 0 g., 20, — avec 0 g., 50). Les dérivés sodés aux doses correspondantes ont simplement retardé la poussée.

8° *Solution de glucose (fermentation).*

Vis-à-vis de la fermentation du glucose par la levure (tableau n° VIII, p. 239), le phénol n'a pu, même à la dose de 0 g., 60, conserver intacte la totalité du sucre. A partir de 0 g., 10 les quantités de sucre disparu en quatre mois se tiennent entre 1 g., 174 et 1 g., 641.

Pour l'acide salicylique, on note un arrêt complet de la fermentation avec 0 g., 10 et des quantités de sucre disparu

de 0 g., 321 et 0 g., 209 pour les doses de 0 g., 25 et 0 g., 50. Malgré une légère irrégularité, l'acide salicylique est donc ici bien supérieur au phénol.

Nous pouvons rapprocher de ces résultats les indications suivantes :

F. Duchacek (246) a observé que la fermentation par la levure n'était pas entravée avec une dose de 0,1 p. 100 d'acide salicylique, mais que des doses de 0,20 à 0,25 p. 100 en diminuaient l'intensité dans la proportion de 20 à 35 p. 100. M. Rosenblatt et M. Rosenband (466) ont déterminé, pour différents acides, les concentrations limites capables d'arrêter complètement la fermentation alcoolique et trouvé que pour certains il fallait atteindre une dose très élevée pour obtenir ce résultat. Avec l'acide salicylique cette concentration est de M/60, soit 2 g., 30 par litre. Ces auteurs opposent cette résistance de la levure vis-à-vis de doses importantes des différents acides essayés à l'extrême sensibilité de certaines diastases à la moindre trace d'acidité (cf. G. Bertrand, 177 ; G. Bertrand et M. Rosenband, 178). Ils admettent, pour expliquer le fait, que, dans le cas de la levure, les diastases endocellulaires sont protégées par la membrane peu perméable aux acides.

Les acides salicyliques monohalogénés se sont montrés au moins aussi énergiques que l'acide salicylique : pas de sucre disparu avec 0 g., 25 et 0 g., 50 d'acide 5-bromosalicylique, quantités de sucre disparu 0 g., 209 avec 0 g., 10 de cet acide et 0 g., 099 à 0 g., 209 avec les acides 5-chloro- et 5-iodo.

Les acides dihalogénés sont un peu plus faibles : dans le cas des acides dichloré et dibromé le sucre disparu est compris entre 0 g., 099 (avec 0 g., 50 d'acide dichloré) et 0 g., 431 (avec 0 g., 10 d'acide dibromé); l'acide diiodé s'est montré le moins puissant en laissant fermenter des quantités de sucre allant de 1 g., 949 (avec 0 g., 25) à 2 g., 475 (avec 0 g., 50).

En présence de salicylate de méthyle les quantités de

sucres détruits par la levure vont en décroissant de 2 g., 993 à 0 g., 708, quand les doses d'antiseptique passent de 0 g., 05 à 0 g., 50. H. Kolbe (251) n'avait pas reconnu de pouvoir inhibiteur à l'essence de Gaulthérie vis-à-vis de la fermentation alcoolique.

Ses dérivés halogénés ont laissé la levure détruire des quantités de sucre allant de 4 g., 771 (dichlorosalicylate de méthyle : 0 g., 10) à la totalité (5-bromo- 0 g., 10, 5-iodo- 0 g., 10, 3-5-dibromo- 0 g., 10 et 0 g., 50, 3-5-diiodosalicylate de méthyle 0 g., 10). Les esters méthylsalicyliques halogénés n'ont donc manifesté aucun pouvoir de conservation.

L'aldéhyde salicylique a permis de protéger la presque totalité du sucre (sucre disparu 0 g., 531 à 0 pour des doses de 0 g., 10 à 0 g., 50).

Les aldéhydes monohalogénés ne sont pas parvenus à entraver totalement la fermentation. Néanmoins à partir de la dose de 0 g., 10, les quantités de sucre disparu ont été au maximum de 1 g., 062 (aldéhyde 5-bromo- : 0 g., 10) ; pour les doses supérieures à 0 g., 10, ces quantités sont comprises entre 0 g., 833 et 0 g., 209.

Les aldéhydes dichloré et dibromé ont été très actifs à la dose de 0 g., 05 (sucre disparu : 0 g., 589 et 0 g., 468). L'aldéhyde diiodé s'est montré un peu moins actif (2 g., 055 à 1 g., 187 de sucre disparu pour des doses de 0 g., 10 à 0 g., 50).

Le saligénol a été peu efficace; même avec 0 g., 50, la quantité de sucre disparu est encore voisine de 2 g. (1 g., 949). Ses dérivés halogénés ont été meilleurs : 5-chloro- et 5-bromo- à partir de 0 g., 15 à 0 g., 20 (sucre disparu : 0 g., 589 et 0 g., 468), 5-iodo- à partir de 0 g., 25 (1 g., 087), 3-5-dichloro- et 3-5-dibromo- à partir de 0 g., 05 à 0 g., 08 (0 g., 708 et 0 g., 468), diiodosaligénol à partir de 0 g., 10 (0 g., 642 de sucre disparu).

Les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle n'ont pas manifesté un pouvoir inhibiteur très élevé. L'ester méthylique n'a exercé une action un peu appréciable qu'après dissolution à chaud : avec les doses de 0 g., 20, 0 g., 25 et

0 g., 50, les quantités de sucre disparu ont été de 0 g., 743, 0 g., 589 et 1 g., 062. L'ester propylique, même dissous à chaud, a été encore moins actif (sucre disparu 1 g., 062 à 1 g., 641). Les dérivés sodés se sont comportés sensiblement comme les esters à l'état libre.

Il serait intéressant de voir si ces corps agissent sur la fermentation alcoolique avant d'agir sur la croissance comme l'ont observé L. Genevois, P. Cayrol et T. Nicolaïeff (280, 282) pour l'acide monobromacétique. Ces auteurs ont montré en effet qu'il peut se développer des moisissures sans fermentation, sur une solution sucrée, acide. Il y a donc là deux actions biologiques différentes. De même les aldéhydes et cétones halogénées (série acyclique) inhibent la fermentation avant d'agir sur la respiration (L. Genevois et Kirmann, 283). Avec les bactéries lactiques (L. Genevois et Nicolaïeff, 284), le *Bacterium xylinum* (M. Cozic, 229), on observe aussi cette indépendance entre la fermentation et la respiration. D'après P. Cayrol (204, 205), cette inhibition de la fermentation sans inhibition de la respiration ou de la croissance cellulaire (bien distincte d'une action narcotique ou toxique) semble une propriété caractéristique des acides gras simples monohalogénés en *a*. Ces travaux sont encore développés dans les Mémoires de P. Cayrol et L. Genevois (206), L. Genevois et Brisou (281), J. Brisou (192), M. et J. Brisou (191), H. Quéré (444), A. Radoeff (445), Einar Ludsgaard (251).

CONCLUSIONS DU CHAPITRE PREMIER

Des essais de conservation qui viennent d'être décrits et qui ont eu pour but d'étudier l'action antiseptique des dérivés halogénés de la série salicylique dans leurs conditions normales de solubilité à froid vis-à-vis des germes de l'air, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

I. — *L'acide salicylique* s'est montré nettement supérieur au phénol dans presque tous les essais. Tandis que celui-ci, à l'état de solution complète, exerçait son action d'empêchement à des doses généralement comprises entre 0 g., 10 et 0 g., 30, celui-là, avec une solubilité maxima de 0 g., 20 p. 100 dans l'eau pure, a, dans la plupart des cas, donné des résultats identiques à des doses inférieures ou égales à celles qui étaient nécessaires pour le phénol. Ceci confirme une fois de plus le pouvoir antigénétique élevé de l'acide salicylique comparativement à celui du phénol.

II. — Les *acides salicyliques mono- et dihalogénés* ont été dans l'ensemble plus actifs que l'acide salicylique, car leur efficacité s'est souvent manifestée à des doses inférieures ou égales à celui-ci en dépit de leur solubilité beaucoup plus faible. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les acides 5-chloro-, 3-5-dichloro- et 3-5-dibromosalicyliques.

III. — Le *salicylate de méthyle* a pu protéger l'eau peptonée et le liquide de Raulin (0 g., 08) et entraver notablement la fermentation alcoolique; pour les autres milieux la dose de 0 g., 50 a été insuffisante pour éviter toute altération. En somme il n'est pas doué d'un pouvoir inhibiteur bien remarquable.

Les *esters méthylsalicyliques halogénés* se sont révélés incapables d'exercer une action de conservation même de courte durée. Dans la plupart des expériences les altérations ou fermentations commençaient presque sans retard comparativement aux témoins. Les retards les plus importants ont été observés avec le 5-chlorosalicylate de méthyle.

IV. — Ces essais ont également confirmé les propriétés antigénétiques de l'*aldéhyde salicylique* : conservation assurée presque partout avec des doses de 0 g., 08 à 0 g., 10 p. 100.

Les *aldéhydes salicyliques halogénés* sont incontestablement de tous les corps essayés ceux qui ont exercé l'action inhibitrice la plus forte, encore supérieure à celle de l'aldéhyde salicylique lui-même. Il faut tenir compte en outre, dans cette comparaison avec l'aldéhyde salicylique, que l'on a affaire d'une part à un corps liquide relativement soluble dans l'eau (environ 5 p. 1000), d'autre part à des corps solides et quasi-insolubles. Il y a lieu de retenir tout particulièrement comme ayant été les plus efficaces l'aldéhyde 5-chloro- et l'aldéhyde 5-bromosalicyliques.

V. — Même à la dose de 0 g., 50 p. 100, le *saligénol*, quoique parfaitement dissous, n'a presque jamais donné de résultat satisfaisant.

Les *saligénols halogénés* lui sont nettement supérieurs. Cependant, malgré leur plus grande solubilité relative, ils viennent bien après les dérivés correspondants des acides et des aldéhydes.

VI. — L'augmentation du pouvoir antigénétique à la suite de l'halogénéation du noyau salicylique, déjà mise en évidence par nos déterminations exposées dans la deuxième partie, se trouve à nouveau vérifiée par ces essais. Toutefois la prépondérance des dérivés iodés par rapport aux isomères correspondants chlorés et bromés n'apparaît pas d'une manière aussi frappante ici. Cela tient à leur solubilité considérablement plus faible.

VII. — Utilisés dans les mêmes conditions (solubilisation à froid) les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle se sont comportés de façon irrégulière et leur pouvoir inhibiteur s'est révélé notablement inférieur à celui de la plupart des corps essayés.

Remarquons à cet endroit que l'action de ces produits a

été contestée de différents côtés. Ainsi H. Velthorst (546), ayant essayé la nipagine et le nipasol, en même temps que les acides benzoïque et p-oxybenzoïque, a enregistré un certain nombre d'insuccès et conclut de ses essais que ces corps ont une action, suivant les cas, insuffisante ou irrégulière et ne sauraient constituer des agents de conservation idéaux comme le prétend Th. Sabalitschka. Ce dernier (481) a depuis critiqué et réfuté les arguments et les expériences de Velthorst.

D'autre part, J. Mussil et O. Smejkal (427) ont cherché à conserver le lait au moyen de ces produits. Ils ont trouvé qu'ils n'ont d'action sur les bactéries qu'en les utilisant à de fortes concentrations qui altèrent considérablement le goût du lait et que de plus ils ralentissent l'activité des ferments, sans agir toutefois sur la peroxydase, ni sur le ferment protéolytique du *Bacillus subtilis*. Ces auteurs concluent que, dans ce cas, la nipagine et le nipasol ne constituent qu'un moyen de conservation très imparfait. Th. Sabalitschka leur a répondu que le nipasol n'altérerait pas le goût du lait, mais que d'ailleurs il ne l'avait jamais conseillé pour la conservation de cet aliment.

G. Korthoff (358), tout en reconnaissant qu'une solution à 0 g., 2 p. 100 de nipasol sodé possède une faculté de désinfection au moins aussi forte que celle d'une solution de phénol à 0 g., 5 et est moins paralysée que celle-ci par l'albumine animale, trouve néanmoins que cette action défavorable des protéines est loin d'être négligeable, ce qui rend le produit impropre à la désinfection des cavités du corps ou des tissus animaux.

VIII. — Les microorganismes les plus sensibles à l'action des dérivés salicyliques halogénés ont été, semble-t-il, les moisissures (*Penicillium*, *Aspergillus*...) (voir liquide de Raulin, solution d'émétique, p. ex.). Au contraire les bactéries paraissent plus difficilement influencées (voir p. ex. urine,

sérum de cheval... pour lesquels très peu de produits ont été réellement efficaces).

E. Klarman, A. Shternow et L. W. Gates (340) ont reconnu aussi que, vis-à-vis des phénols halogénés, les moisissures sont plus sensibles que les bactéries.

CHAPITRE II

DETERMINATION DE LA TOXICITE DE QUELQUES DERIVES SALICYLIQUES HALOGENES

Dans ce deuxième chapitre, nous allons, pour clore cette étude sur les dérivés salicyliques halogénés, rapporter quelques expériences ayant trait à la toxicité de ceux d'entre eux qui ont fait preuve du plus grand pouvoir inhibiteur dans les essais du chapitre précédent. Nous avons examiné : les acides salicylique, 5-chloro-, 5-bromo-, 3-5-dichloro et 3-5-dibromosalicyliques, l'aldéhyde salicylique et le saligénol, ainsi que leurs dérivés monochlorés et monobromés, et enfin, à titre de comparaison, les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle.

Les doses mortelles de ces différents corps ont été déterminées sur le rat. L'administration a été faite par voie stomacale en utilisant des suspensions huileuses de chaque corps à 10 p. 100 (ou 20 p. 100, quand la quantité à administrer était trop importante) et une seringue graduée en dixièmes de centimètre cube et munie d'une aiguille à pointe mousse.

Dans de telles conditions, l'absorption par l'organisme de l'animal était forcément très lente. Nous avons donc considéré comme dose mortelle la moyenne entre la dose provoquant la mort de tous les animaux en 48 heures au maximum et la dose ayant donné au maximum 50 p. 100 de cas de survie.

Voici le détail de ces expériences :

ACIDE SALICYLIQUE

POIDS DU RAT (grammes)	NOMBRE DE CM ³ ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 10 P. 100)	DOSE PAR KG. (en gram- mes)	RÉSULTATS
150 g.	0,45	0 g., 30	Survie
135	0,4	»	»
140	0,4	»	»
140	0,4	»	»
180	0,55	»	»
165	0,5	»	»
140	0,7	0 g., 50	Survie
150	0,75	»	»
160	0,8	»	»
120	0,6	»	»
130	0,65	»	»
170	0,85	»	Mort en 24 heures
150	0,75	»	Mort en 11 jours
205	1,55	0 g., 75	Mort le troisième jour
164	1,25	»	Mort le deuxième jour
166	1,25	»	Survie
155	1,15	»	Mort en 24 heures
120	0,9	»	Mort le troisième jour
150	1,5	1 g.	Mort en 24 heures
140	1,4	»	Mort en 48 heures
170	1,7	»	Mort en 48 heures
160	1,6	»	Mort en 24 heures
155	1,55	»	Mort en 24 heures
180	1,8	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle : 0 g., 75 à 1 g., moyenne : 0 g., 85 par kg.

ACIDE 5-CHLOROSALICYLIQUE

148 g.	0,15	6 g., 10	Survie
155	0,15	»	»
151	0,15	»	»
150	0,15	»	»
200	0,20	»	»
154	0,15	»	»

POIDS DU RAT (grammes)	NOMBRE DE CM ³ ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 10 P. 100)	DOSE PAR KG. (en gram- mes)	RÉSULTATS
140	0,35	0 g., 25	Survie
155	0,4	»	»
150	0,4	»	Mort en 24 heures
115	0,3	»	Survie
120	0,3	»	»
115	0,3	»	Mort en 24 heures
160	0,4	»	Mort en 24 heures
160	0,8	0 g., 50	Mort en 24 heures
170	0,85	»	»
130	0,65	»	»
150	0,75	»	»
140	0,7	»	»
230	2,3	1 g.	Mort en 2 heures
180	3,6	2 g.	Mort en 15 minutes
150	3	»	Mort en 10 minutes

Dose mortelle : 0 g., 25 à 0 g., 50, moyenne : 0 g., 40 par kg.

ACIDE 5-BROMOSALICYLIQUE

145 g	0,15	0 g., 10	Mort en 24 heures
150	0,15	»	Survie
150	0,15	»	»
200	0,20	»	»
145	0,15	»	»
205	0,20	»	»
195	0,20	»	»
140	0,35	0 g., 25	Mort en 24 heures
105	0,25	»	Mort en 10 jours
140	0,35	»	Survie
120	0,3	»	Mort en 3 jours
125	0,3	»	Survie
160	0,4	»	Mort en 24 heures
170	0,5	0 g., 30	Mort en 48 heures
168	0,5	»	Mort en 24 heures
148	0,45	»	Mort en 24 heures
150	0,45	»	Mort en 24 heures
195	0,6	»	Mort en 24 heures

POIDS DU RAT (grammes)	NOMBRE DE CM ² ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 10 P. 100)	DOSE PAR KG. (en gram. mes)	RÉSULTATS
150	0,75	0 g., 50	Mort en 2 heures
150	0,75	»	Mort en 24 heures
246	1,25	»	Mort en 24 heures
180	0,9	»	Mort en 4 heures
140	0,7	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle : 0 g., 25 à 0 g., 30, moyenne : 0 g., 275 par kg.

ACIDE 3-5-DICHLOROSALICYQUE

150 g.	0,15	0 g., 10	Survie
200	0,20	»	»
160	0,15	»	»
120	0,1	»	»
120	0,3	0 g., 25	Survie
160	0,4	»	Mort en 24 heures
105	0,25	»	Survie
140	0,35	»	»
240	0,60	»	Mort en 24 heures
200	0,5	»	Survie
140	0,7	0 g., 50	Mort le troisième jour
190	0,95	»	Mort en 24 heures
110	0,55	»	Mort en 24 heures
170	0,85	»	Mort en 48 heures
160	0,8	»	Mort en 24 heures
190	0,95	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle entre 0 g., 25 et 0 g., 50, moyenne : 0 g., 35 par kg.

ACIDE 3-5-DIBROMOSALICYLIQUE

110 g.	0,1	0 g., 10	Survie
150	0,15	»	»
145	0,15	»	»
160	0,4	0 g., 25	Survie
140	0,35	»	»
145	0,35	»	Mort en 24 heures
120	0,3	»	Survie
180	0,45	»	»
125	0,3	»	»

POIDS DU RAT (grammes)	NOMBRE DE CM ³ ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 10 P. 100)	DOSE PAR KG. (en gram- mes)	RÉSULTATS
180	0,9	0 g., 50	Mort en 24 heures
140	0,7	»	Mort en 24 heures
150	0,75	»	Mort en 48 heures
170	0,85	»	Mort en 48 heures
160	0,8	»	Mort en 24 heures
190	0,95	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle entre 0 g., 25 et 0 g., 50, moyenne: 0 g., 35 par kg.

ALDÉHYDE SALICYLIQUE

120 g.	0,3	0 g., 25	Survie
140	0,35	»	»
121	0,3	»	»
160	0,4	»	»
120	0,3	»	»
200	0,5	»	»
170	0,85	0 g., 50	Survie
150	0,75	»	»
190	0,95	»	Mort en 20 minutes
130	0,65	»	Survie
140	0,70	»	Mort le cinquième jour
140	0,7	»	Survie
130	0,65	»	Mort en 15 minutes
160	0,8	»	Survie
200	1,70	0 g., 75	Mort en 5 minutes
170	1,3	»	Mort en 48 heures
195	1,5	»	Mort en 5 minutes
160	1,2	»	Mort en 24 heures
180	1,35	»	Mort en 24 heures
150	1,1	»	Mort en 24 heures
150	1,5	1 g.	Mort en 24 heures
180	1,8	»	Mort en 5 minutes
170	1,7	»	Mort en 5 minutes
190	1,9	»	Mort en 2 heures
160	1,6	»	Mort en 10 minutes
145	1,45	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle entre 0 g., 50 et 0 g., 75, moyenne: 0 g., 65 par kg.

ALDÉHYDE 5-CHLOROSALICYLIQUE

POIDS DU RAT <i>(grammes)</i>	NOMBRE DE CM ³ ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 10 P. 100)	DOSE PAR KG. <i>(en gram- mes)</i>	RÉSULTATS
150 g.	0,75	0 g., 50	Survie
140	0,7	»	»
120	0,6	»	»
130	0,65	»	»
120	0,6	»	»
170	0,85	»	»
140	0,7	»	»
160	1,2	0 g., 75	Survie
125	0,95	»	»
140	1	»	»
148	1,1	»	Mort en 48 heures
125	0,95	»	»
170	1,3	»	Survie
155	1,55	1 g.	Mort en 24 heures
165	1,65	»	Mort en 48 heures
205	2	»	Mort en 48 heures
140	1,4	»	Mort en 48 heures
170	1,7	»	Mort en 24 heures
180	1,8	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle entre 0 g., 75 et 1 g., moyenne: 0 g., 90 par kg.

ALDÉHYDE 5-BROMOSALICYLIQUE

200 g.	1	0 g., 50	Survie
220	1,1	»	»
170	0,85	»	»
160	0,80	»	»
150	0,75	»	»
180	0,9	»	»
140	1	0 g., 75	Mort le troisième jour
120	0,9	»	Mort en 48 heures
190	1,4	»	Survie
150	1,1	»	»
120	0,9	»	»
160	1,2	»	»

POIDS DU RAT (grammes)	NOMBRE DE CM ³ ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 10 P. 100)	DOSE PAR KG. (en gram- mes)	RÉSULTATS
140	1,4	1 g.	Mort en 48 heures
150	1,5	»	Mort en 24 heures
180	1,8	»	Mort en 24 heures
200	2	»	Mort en 24 heures
180	1,8	»	Mort en 48 heures
170	1,7	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle entre 0 g., 75 et 1 g., moyenne: 0 g., 90 par kg.

SALIGÉNOL

140 g.	0,7	0 g., 50	Survie
120	0,6	»	»
170	0,85	»	»
150	0,75	»	»
140	1,4	1 g.	Mort en 4 jours
150	1,5	»	Survie
120	1,2	»	Mort en 8 jours
220	2,2	»	Survie
200	2	»	»
190	1,9	»	Mort en 4 jours
130	1,9	1 g., 5	Mort en 24 heures
140	2,1	»	Mort en 24 heures
150	2,25	»	Mort en 24 heures
180	2,7	»	Survie
160	2,4	»	Mort en 24 heures
190	2,8	»	Survie
130	2,6	2 g.	Mort en 24 heures
125	2,5	»	Mort en 24 heures
180	3,6	»	Mort en 24 heures
150	3	»	Mort en 24 heures
140	2,8	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle entre 1 g., 50 et 2 g., moyenne : 1 g., 75 par kg.

5-CHLOROSALIGÉNOL

	(SUSPENSION A 20 P. 100)		
125 g.	1,25	2 g.	Survie
190	1,9	»	»
180	1,6	»	»

POIDS DU RAT (grammes)	NOMBRE DE CM ³ ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 20 P. 100)	DOSE PAR KG. (en gram- mes)	RÉSULTATS
150	2,25	3 g.	Mort en 30 minutes
140	2,10	»	Survie
160	2,4	»	Mort en 15 minutes
180	2,7	»	Survie
170	2,6	»	Mort en 4 heures
160	3,2	4 g.	Mort en 24 heures
190	3,8	»	Mort en 4 heures
160	3,2	»	Mort en 10 minutes
180	3,6	»	Mort en 24 heures
150	3	»	Mort en 2 heures

Dose mortelle entre 3 g. et 4 g., moyenne : 3 g., 50 par kg.

5-BROMOSALIGÉNOL

160 g.	0,8	1 g.	Survie
170	1,7	2 g.	»
160	2,4	3 g.	»
130	2,6	4 g.	»
140	2,8	»	»
170	3,4	»	Mort en 24 heures
150	3	»	Survie
120	3	5 g.	Mort en 24 heures
140	3,5	»	Mort en 24 heures
160	4	»	Mort en 4 heures
150	3,7	»	Mort en 24 heures

Dose mortelle entre 4 g. et 5 g., moyenne : 4 g., 50 par kg.

P-OXYBENZOATE DE MÉTHYLE

170 g.	1,7	2 g.	Survie
180	2,7	3 g.	»
130	2,6	4 g.	»
140	3,5	5 g.	»
160	4,8	6 g.	»

Dose mortelle supérieure à 6 g. par kg.

P-OXYBENZOATE DE PROPYLE

POIDS DU RAT (grammes)	NOMBRE DE CM ³ ADMINISTRÉ (SUSPENSION A 20 P. 100)	DOSE PAR KG. (en gram- mes)	RÉSULTATS
160 g.	1,6	2 g.	Survie
180	2,7	3 g.	»
140	2,8	4 g.	»
150	3,7	5 g.	»
160	4,8	6 g.	»

Dose mortelle supérieure à 6 gr. par kg.

En résumé, les *doses mortelles pour le rat* ont été les suivantes :

	GRAMMES p. kg. d'animal
Acide salicylique	0,85
Acide 5-chlorosalicylique	0,40
Acide 5-bromosalicylique	0,275
Acide 3-5-dichlorosalicylique	0,35
Acide 3-5-dibromosalicylique	0,35
Aldéhyde salicylique	0,65
Aldéhyde 5-chlorosalicylique	0,90
Aldéhyde 5-bromosalicylique	0,90
Saligénol	1,75
5-chlorosaligénol	3,50
5-bromosaligénol	4,50
p-oxybenzoate de méthyle	>6
p-oxybenzoate de propyle	>6

Nous ne donnerons aux doses rapportées ci-dessus que quelques commentaires.

L'acide salicylique est généralement considéré comme mortel pour les animaux à des doses supérieures à 0 g., 50 par kg.

(0 g., 40 à 0 g., 50 de salicylate de sodium pour le chien, 1 g., 20 à 1 g., 70 pour le lapin (A. Behre, 173 ; K. Schubel et J. Manger, 506). Pour le rat, nous avons trouvé 0 g., 85 par kg.

C'est à cause de cette toxicité, qui peut ne pas être négligeable pour l'homme, que Brouardel (193) a conclu à l'interdiction formelle de l'emploi de l'acide salicylique comme agent de conservation dans son rapport sur le salicylage des substances alimentaires.

Les autres corps halogénés ne paraissent pas avoir été étudiés jusqu'à présent. Notons seulement que D. Macht et Fitzgerald Dunning (408) ont indiqué une dose toxique entre 0 g., 25 et 0 g., 50 de monobromosaligénol vis-à-vis de différentes sortes d'animaux.

Les p-oxybenzoates de méthyle et de propyle sont apparus peu toxiques comme l'avait déjà prouvé le travail de K. Schubel et J. Manger.

L'halogénéation augmente la toxicité de l'acide salicylique, ce qui est conforme à l'opinion établie ; par contre elle diminue la toxicité de l'aldéhyde salicylique et du saligénol (tout au moins pour les dérivés monochlorés et monobromés). Toutefois dans cette comparaison, il y a lieu de tenir compte que l'absorption était pour l'aldéhyde salicylique, vu son état de solution complète dans l'huile, beaucoup plus rapide que pour ses dérivés halogénés. D'ailleurs un certain nombre d'animaux après administration d'aldéhyde salicylique sont morts en quelques minutes avec convulsions. Pour les autres corps, les symptômes généraux de l'intoxication étaient surtout marqués par une somnolence plus ou moins profonde ou intermittente.

CONCLUSIONS

Le but du travail que nous présentons ici, a été d'apporter une contribution à l'étude de l'influence de la constitution chimique sur le pouvoir antibactérien des substances phénoliques. Nos recherches ont porté sur des corps comportant comme noyau fondamental le noyau salicylique. Les variations dans la constitution chimique des produits examinés ont porté : d'une part, sur le groupement fonctionnel principal : acide, aldéhyde ou alcool salicyliques ; d'autre part, sur la substitution dans chacun de ces trois corps, d'un ou plusieurs atomes d'hydrogène par un ou deux atomes d'éléments susceptibles d'apporter de puissantes propriétés germicides, les éléments halogènes (chlore, brome, iode).

A. — Dans la PREMIÈRE PARTIE, nous étudions les méthodes de préparation des corps que nous avons essayés. Pour chacun d'eux, nous faisons d'abord un historique des méthodes d'obtention qui ont été successivement proposées, puis nous décrivons avec plus de détails celles que nous avons adoptées en raison de leur commodité ou de leurs rendements intéressants.

Les procédés de préparation que nous avons utilisés, peuvent se ranger sous trois chefs principaux : *procédés par halogénéation directe*, *procédés par halogénéation indirecte*, *procédés par réduction*.

L'*halogénéation directe* est réalisable avec le chlore et le brome pour l'acide salicylique, le salicylate de méthyle et l'aldéhyde salicylique en opérant généralement sur le corps

en dissolution ou en suspension dans un véhicule liquide (acide acétique, sulfure de carbone, tétrachlorure de carbone, nitrobenzène) avec addition au besoin d'un catalyseur (iode, fer). La bromation directe peut être aussi employée dans le cas du saligénol en procédant avec ménagements. L'iodation directe est possible dans quelques cas (acide iodo-5-salicylique et ester méthylique de l'acide 3-5-diiodosalicylique) mais il est nécessaire d'effectuer la réaction en présence d'oxyde de mercure pour absorber l'acide iodhydrique au fur et à mesure de sa formation.

L'*halogénéation indirecte* donne parfois des résultats plus intéressants que l'halogénéation directe : emploi du chlorure de sulfuryle pour la préparation du 5-chlorosalicylate de méthyle et de l'aldéhyde 5-chlorosalicylique ; du mélange perhydrol et acide chlorhydrique pour celle de l'acide 3-5-dichlorosalicylique ; du chlorure d'iode pour l'obtention de l'acide 3-5-diiodosalicylique et des aldéhydes salicyliques mono- et diiodés ; de l'iode en solution alcaline (c'est-à-dire de l'iode naissant provenant de la décomposition d'un hypoïodite) pour les iodosaligénols.

Le saligénol et ses dérivés chlorés et bromés sont obtenus facilement par *réduction* des acides ou des amides correspondants. La réduction des amides salicylique et 5-chlorosalicylique s'effectue au moyen de l'amalgame de sodium en présence d'acide acétique. Toutefois pour les saligénols chlorés et bromés il est plus intéressant d'effectuer la réduction des acides correspondants au moyen de l'hydrogène électrolytique. Quant aux dérivés iodés les méthodes par réduction ne donnent pas de bons résultats pour leur préparation, l'iode se séparant trop facilement du noyau dans les conditions expérimentales requises.

Nous avons ainsi préparé, purifié et caractérisé du point de vue chimique les corps suivants :

Dérivés monohalogénés de l'acide salicylique et de son ester méthylique :

Acide 5-chlorosalicylique et 5-chlorosalicylate de méthyle ;

Acide 5-bromosalicylique et 5-bromosalicylate de méthyle ;

Acide 5-iodosalicylique et 5-iodosalicylate de méthyle.

Dérivés dihalogénés de l'acide salicylique et de son ester méthylique :

Acide 3-5-dichlorosalicylique et 3-5-dichlorosalicylate de méthyle ;

Acide 3-5-dibromosalicylique et 3-5-dibromosalicylate de méthyle ;

Acide 3-5-diiodosalicylique et 3-5-diiodosalicylate de méthyle.

Dérivés monohalogénés de l'aldéhyde salicylique :

Aldéhyde 5-chlorosalicylique ;

Aldéhyde 5-bromosalicylique ;

Aldéhyde 5-iodosalicylique.

Dérivés dihalogénés de l'aldéhyde salicylique :

Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique ;

Aldéhyde 3-5-dibromosalicylique ;

Aldéhyde 3-5-diiodosalicylique.

Saligénol.

Dérivés monohalogénés du saligénol :

5-chlorosaligénol ;

5-bromosaligénol ;

5-iodosaligénol.

Dérivés dihalogénés du saligénol :

3-5-dichlorosaligénol ;

3-5-dibromosaligénol ;

x-x-diiodosaligénol.

B. — Dans la DEUXIÈME PARTIE, nous avons abordé l'examen du pouvoir antimicrobien de ces corps.

1° Après avoir essayé de comprendre le mécanisme de l'action des corps antiseptiques sur la cellule bactérienne, nous avons réuni, dans un *premier chapitre*, les indications bibliographiques ayant trait à l'activité antimicrobienne des corps phénoliques et de leurs dérivés halogénés.

De l'ensemble considérable de ces travaux, où nous retrouvons les noms des principaux bactériologistes français et étrangers, retenons les lois générales suivantes :

Le pouvoir antibactérien du benzène, pratiquement nul, est notablement accru par l'introduction dans le noyau soit d'un groupement oxyhydre (phénol), soit d'un groupement carboxyle (acide benzoïque), soit d'un groupement aldéhyde (aldéhyde benzoïque). L'introduction d'une fonction alcool (alcool benzylique) exerce une influence beaucoup plus faible.

Tandis que l'introduction de radicaux alkylés dans le noyau du benzène ne modifie pas sensiblement le pouvoir antiseptique de celui-ci, la même substitution dans le noyau du phénol (et dans beaucoup d'autres noyaux aromatiques) provoque un renforcement notable du pouvoir désinfectant, renforcement qui augmente avec le poids moléculaire du groupement alkyle au moins jusqu'à une certaine limite.

Les radicaux alkylés à chaîne normale ont toujours une influence plus grande que les radicaux correspondants comportant une chaîne ramifiée ou à double liaison ou cyclique.

Ces règles s'appliquent aux radicaux alkyles, lorsqu'ils étherifient une fonction phénol ou qu'ils estérifient une fonction acide, si l'éther ou l'ester obtenu a une action accrue par rapport au phénol ou à l'acide dont il provient.

Nous avons vu aussi que, si l'activité antimicrobienne varie avec la place occupée par les différents substituants, il ne semble pas cependant que l'influence de l'isomérisie de position soit soumise à des règles fixes valables d'une manière générale.

Pour ce qui est de la série salicylique en particulier, l'introduction dans le noyau du phénol des groupements CO^2H ,

CHO, CH²OH agit sensiblement dans le même sens que dans le cas du benzène. Ainsi la substitution d'un H par un CO²H dans le phénol en ortho (acide salicylique) et même en para (acide p-oxybenzoïque) renforce l'action antimicrobienne. Il en est de même pour le groupement CHO. Au contraire le groupement CH²OH affaiblit l'action du phénol.

Quant à l'influence exercée par l'halogénéation des corps phénoliques en général, et des dérivés salicyliques en particulier, nous avons vu que dans la plupart des cas la puissance germicide est fortement accrue et que ce renforcement augmente avec le nombre des atomes d'halogènes introduits au moins jusqu'à une certaine limite dans le nombre des substitutions.

Il est à noter que les éléments halogènes se comportent ainsi comme les groupements alkyles.

La qualité de l'halogène a une action très variable ; tantôt c'est le chlore qui apporte le pouvoir microbien le plus élevé, tantôt c'est le brome, et souvent aussi l'iode. Les résultats varient suivant la série de corps envisagés et en outre avec l'espèce microbienne mise en expérience.

2° Le *deuxième chapitre* de cette deuxième partie a été consacré à la description des *méthodes d'essai des antiseptiques*.

Les corps que nous avons étudiés, comportant tous une fonction phénolique, nous devions être amené à prendre en considération en premier lieu les méthodes donnant des résultats en fonction du phénol, méthodes dites des coefficients phénol.

Ces méthodes toutefois venaient d'être étudiées de manière très approfondie dans le même laboratoire, sous la direction de J. Régnier, par S. Lambin, qui avait élevé contre elles des critiques très fondées, particulièrement en ce qui concerne l'influence perturbatrice du facteur antigénétique dans l'épreuve de survie. Aussi avons-nous adopté les deux méthodes

prises au point par cet auteur : méthode dite « directe » et méthode dite « par centrifugation ».

A la différence des méthodes des coefficients phénol qui donnent des résultats en valeurs relatives, ces deux méthodes donnent des résultats en valeurs en quelque sorte absolues.

Sans doute dans la première, méthode « directe », le transport d'une petite quantité d'antiseptique dans le milieu de subculture laisse subsister l'action du facteur antigénétique au cours de l'épreuve de survie, mais les conditions très strictes dans lesquelles il convient d'opérer permettent de mesurer exactement la grandeur de cette action, par le calcul du rapport entre la dose d'antiseptique transportée et la dose antigénétique, en sorte que l'on a ainsi la faculté d'apprécier en toute certitude la validité des essais.

La seconde méthode, au contraire, méthode « par centrifugation », permet d'éliminer totalement le facteur antigénétique, puisque, avant le transport dans le milieu de subculture, les germes sont lavés plusieurs fois à l'eau distillée stérile pour les débarrasser de toute trace d'antiseptique et séparés après chaque lavage par centrifugation.

Cette deuxième méthode, de pratique sans doute plus délicate, mais qui donne des résultats incontestables, doit donc être appliquée dans les cas où la première se révèle inapplicable, notamment lorsqu'il s'agit de corps possédant un pouvoir antigénétique élevé.

3° Dans le *troisième chapitre*, nous donnons les pouvoirs antigénétiques et antibiotiques déterminés vis-à-vis de deux espèces microbiennes : *Staphylococcus pyogenes aureus* (espèce non sporulée) et *Bacillus subtilis* (espèce sporulée). Cette dernière espèce toutefois a résisté grâce à ses spores à l'action antibiotique de tous les produits essayés : aucun d'eux n'est parvenu à la détruire totalement.

La quasi-insolubilité dans l'eau de la plupart des corps

étudiés nous a obligé d'effectuer les essais relatés dans ce chapitre en dissolvant chaque antiseptique au moyen de la quantité de soude strictement nécessaire (une molécule de soude pour une molécule du produit généralement).

Les valeurs obtenues dans ces conditions nous ont permis de tirer des conclusions de deux ordres différents.

En ce qui concerne d'abord le degré de certitude des méthodes adoptées pour la mesure des pouvoirs antibiotiques, la discussion des résultats obtenus par la méthode « directe » met en évidence que le facteur antigénétique, contrairement aux conceptions soutenues par les auteurs étrangers, constitue, dans le cas particulier des substances phénoliques, une cause d'erreur très importante. Par conséquent bien que les chiffres donnés par la technique « directe » conservent un certain parallélisme avec ceux fournis par la technique « par centrifugation », seuls ces derniers apportent en valeurs absolues des renseignements indiscutables.

En ce qui concerne, ensuite, le pouvoir antibactérien des composés examinés, nous pouvons retenir les faits suivants :

Ces corps sont surtout intéressants par leur pouvoir antigénétique et tout particulièrement les aldéhydes salicyliques halogénés, dont le pouvoir antigénétique atteint, suivant les cas, de 10 à près de 40 fois celui du phénol.

Les pouvoirs antibiotiques de l'acide salicylique et de ses dérivés halogénés sont inférieurs au pouvoir antibiotique du phénol, sauf pour l'acide dibromé et pour l'acide diiodé.

Le saligénol et le 5-chlorosaligénol ont un pouvoir antibiotique plus faible que le phénol. Tous les autres dérivés halogénés du saligénol sont supérieurs au phénol, sauf une exception pour l'iodosaligénol par la méthode directe.

L'halogénéation augmente en général les pouvoirs antigénétique et antibiotique du noyau salicylique.

L'introduction d'un deuxième atome d'halogène accroît dans la plupart des cas l'action antimicrobienne par rapport aux dérivés monohalogénés correspondants.

La nature de l'halogène ne paraît pas exercer une influence régulière. La plus grande activité a souvent été constatée chez les dérivés iodés ; pour les deux autres substituants l'avantage est tantôt en faveur du chlore, tantôt en faveur du brome.

C. — Dans la TROISIÈME PARTIE, nous avons cherché à appliquer les propriétés antigénétiques ainsi mises en évidence à la conservation de différents milieux offrant par leur composition des conditions de culture favorables aux micro-organismes.

La recherche de nouveaux agents de conservation des substances altérables venait précisément, au cours des années précédentes, de donner lieu à un certain nombre de Mémoires publiés par Th. Sabalitschka et ses élèves. Cet auteur en effet ayant reconnu les propriétés antimicrobiennes des esters de l'acide p-oxybenzoïque a proposé plusieurs d'entre eux pour la conservation de certaines préparations médicamenteuses, de produits biologiques, de produits de parfumerie, de certains produits alimentaires, etc. L'analyse de ces travaux forme l'introduction de notre troisième partie.

Nous avons donc été incité à poursuivre l'étude des dérivés salicyliques halogénés en les utilisant dans les conditions naturelles de leur solubilité dans l'eau ou dans des liquides aqueux et à effectuer comparativement les mêmes essais avec les deux principaux esters préconisés par Th. Sabalitschka, p-oxybenzoates de méthyle (nipagine) et de propyle (nipasol).

1° Les résultats de ces essais de conservation font l'objet du *premier chapitre* de cette troisième partie.

a) Au début de ce chapitre, nous commençons par exposer quelques déterminations effectuées en solution aqueuse concernant les pouvoirs antigénétiques du phénol, des acides salicylique et 5-chlorosalicylique, de l'aldéhyde salicylique, du

saligénol et du 5-chlorosaligénol, des p-oxybenzoates de méthyle et de propyle et les pouvoirs antibiotiques du phénol, de l'acide salicylique et du saligénol. Pour tous les autres corps, les concentrations nécessaires pour obtenir des résultats positifs n'ont pu être atteintes, par suite de leur solubilité insuffisante.

Ces quelques déterminations ont confirmé que l'introduction d'un groupement CO^2H en position ortho dans le noyau du phénol (acide salicylique) augmente le pouvoir antigénétique et le pouvoir antibiotique.

L'introduction d'une fonction aldéhyde dans le noyau du phénol en position ortho (aldéhyde salicylique) augmente le pouvoir antigénétique.

Au contraire l'introduction d'un groupement CH^2OH dans le noyau du phénol en position ortho (saligénol) diminue le pouvoir antigénétique et encore plus le pouvoir antibiotique.

Les pouvoirs antigénétiques des p-oxybenzoates de méthyle et de propyle sont inférieurs à ceux de l'acide et de l'aldéhyde salicylique.

En même temps si l'on compare ces nouveaux résultats à ceux qui ont été obtenus en solution alcaline dans la deuxième partie, se trouve confirmée également la diminution importante du pouvoir antimicrobien par la salification d'une fonction acide ou la transformation d'une fonction phénol en phénate alcalin.

β) Nos essais de conservation ont porté sur les liquides suivants : eau peptonée, urine, sérum de cheval, liquide de Raulin, solution-tampon de Clark et Lubs de $\text{pH}=5$, solution d'émétique, solution de glucose, cette dernière étudiée au double point de vue de l'empêchement du développement des microorganismes d'une part et de l'inhibition de la fermentation alcoolique d'autre part.

En raison du désavantage que constituait la quasi-insolubilité de la plupart des dérivés étudiés, nous fûmes obligé de conduire ces essais de conservation de la façon la plus simple. Des poids connus de chaque corps étaient introduits

dans 100 cm³ du liquide mis en expérience et une agitation très fréquente pendant les premiers jours tendait à assurer la saturation de la solution en produit antiseptique à froid. La contamination du liquide par les germes de l'air était forcément réalisée d'abord au moment de la préparation, puisqu'il n'était pris aucune précaution spéciale d'asepsie, puis en laissant de temps à autre les flacons débouchés pendant quelques heures. Les divers liquides étaient conservés jusqu'à l'apparition manifeste d'une altération d'origine microbienne.

Dans ces conditions particulièrement défavorables, très faible solubilité d'une part, contaminations massives d'autre part, les résultats obtenus, bien qu'offrant par la force des choses une allure parfois irrégulière, n'en confirment pas moins dans leur ensemble les conclusions déjà tirées des déterminations des pouvoirs antigénétiques précédemment effectuées.

Avec une solubilité moindre, l'acide salicylique s'est montré ici encore supérieur au phénol. Il en est de même de l'aldéhyde salicylique, qui a souvent exercé son action inhibitrice à des doses de 0 g., 10 p. 100 et même moindres. Par contre le saligénol a été nettement moins efficace.

Bien que l'halogénéation du noyau salicylique ait pour effet de diminuer encore la solubilité, et souvent dans des proportions considérables, elle n'en provoque pas moins dans presque tous les cas une augmentation du pouvoir de conservation.

Les résultats les plus favorables ont été obtenus avec les dérivés halogénés de l'aldéhyde salicylique, qui ont agi le plus souvent à des doses inférieures à 0 g., 10 p. 100 et même inférieures à 0 g., 01 p. 100. Les deux aldéhydes, qui ont donné les résultats les plus réguliers en même temps que les plus remarquables, sont l'aldéhyde 5-chlorosalicylique et l'aldéhyde 5-bromosalicylique.

On peut encore retenir les dérivés halogénés de l'acide salicylique et notamment les acides 5-chloro-, 3-5-dichloro- et 3-5-dibromosalicyliques.

Le salicylate de méthyle n'a pas manifesté un pouvoir inhibiteur particulièrement notable. Quant aux esters méthylsalicyliques halogénés, ils ont été incapables d'exercer la moindre action de conservation.

Il est à noter d'ailleurs dans l'appréciation des résultats de ces essais, et nous avons insisté sur cette remarque, que la saturation des différents liquides devait être presque toujours obtenue avec des doses bien inférieures aux quantités de produits introduites dans chaque flacon, en sorte que le pouvoir inhibiteur réel est certainement encore plus considérable qu'il n'apparaît à une lecture superficielle des résultats exposés.

Employés dans les mêmes conditions que les dérivés salicyliques halogénés (solubilisation à froid), les p-oxybenzoates de méthyle (nipagine) et de propyle (nipasol) ne nous ont donné que des résultats irréguliers et quelques échecs. Leur pouvoir inhibiteur est très inférieur à celui des dérivés que nous avons retenus. Quelques essais effectués en dissolvant ces corps à chaud, comme le prescrit Th. Sabalitschka, ont donné toutefois des résultats un peu meilleurs.

2° Nous étions donc amené par ces constatations à mesurer la toxicité de ceux tout au moins parmi les dérivés salicyliques halogénés qui avaient montré le plus grand pouvoir de conservation.

Ces essais de toxicité, rapportés dans le *deuxième chapitre* de la troisième partie, ont été effectués sur le rat par administration perorale du produit en suspension dans l'huile. Les doses mortelles des acides et des aldéhydes déterminées dans ces conditions ont été inférieures à 1 g. par kg. d'animal.

Le saligénol et ses dérivés monochloré et monobromé sont un peu moins toxiques, mais viennent loin encore derrière la nipagine et le nipasol pour lesquels la dose mortelle n'a pas été atteinte avec 6 g. par kg. dans les mêmes conditions.

Il semble donc, en présence de ces résultats, que le pouvoir antigénétique si élevé des dérivés salicyliques halogénés soit contrebalancé en partie par leur toxicité relativement élevée.

Il n'en reste pas moins que bon nombre de solutions altérables (liquides biologiques et échantillons prélevés aux fins d'analyse, certains réactifs, certains produits industriels fermentescibles non destinés à l'usage interne...) peuvent être conservés avantageusement par ces substances.

De l'ensemble des résultats expérimentaux apportés par ce travail, nous pouvons retenir particulièrement l'influence remarquable exercée sur le pouvoir antiseptique du noyau phénolique par l'association d'un groupement acide et surtout aldéhyde (en position ortho par rapport à l'oxhydryle) avec un ou plusieurs atomes d'éléments halogènes.

BIBLIOGRAPHIE

Cet index bibliographique est divisé en deux Sections, la première comportant les références d'ordre chimique, la seconde les références d'ordre biologique, chacune de ces Sections étant classée par ordre alphabétique.

I. — REFERENCES CONCERNANT LA PARTIE CHIMIQUE

1. ADAMS (R.), SLOAN (A. W.) and TAYLOR (B. S.). — Aryl 1-3-benzodioxanes. *Journ. Amer. chem. soc.*, 45, 1923, p. 2419.
2. ANSCHULTZ (R.) und MEHRING (H.). — Über die Einwirkung von Phosphorpentachlorid und Phosphortrichlorid auf substituierte o-phenolcarbonsäuren. *Ann. der Chem.*, 346, 1906, p. 300.
3. ANSCHUTZ (R.) und NEFGEN (A.). — Über die Benzotetronsäuregruppe. *Ann. Chem. und Physik*, 367, 1909, s. 263.
4. ANSCHUTZ (R.), ROBITSEK (A.) und SCHMITZ (Fr.). — Über die Einwirkung von Phosphorpentachlorid und phosphor-trichlorid auf 3-5-diiodsalicylsäure. *Ann. der Chem.*, 346, 1906, s. 330.
5. AUWERS (K.) und BÜRGER (O.). — Über Phenylhydrazone einiger aromatischer Oxyaldehyde, II. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 37, 1904, s. 3934.
6. AUWERS (K.) und BÜTTNER (G.). — Über Bromierungsprodukte des Saligenins. *Ann. der Chem.*, 302, 1898, s. 138.
7. AUWERS (K.) und SCHRÖTER (O.). — Über Kondensationsprodukte von organischen Basen mit Phenolen und Pseudophenolen der Kresolreihe. *Ann. der Chem.*, 344, 1906, s. 142.
8. AUWERS (K.) und WALKER (A. J.). — Über Konstitution und kryoskopisches Verhalten von Cyanphenolen. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 31, 1898, s. 3042.
9. BEILSTEIN (F.). — Notiz über Chlorsalicylsäure. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 8, 1875, s. 816.
10. BEILSTEIN (F.). — Über Dichlorbenzoesäuren. *Ann. der Chem.*, 179, 1875, s. 285.

11. BEILSTEIN (F.) und SEELHEIM (F.). — Über das Saligenin. *Ann. der Chem.*, 117, 1861, s. 84.
12. BERTAGNINI (C.). — Über die Verbindungen einiger flüchtigen Öle mit den zweifach schwefligsauren Alkalien. *Ann. der Chem.*, 85, 1853, s. 196.
13. BERTRAND (G.). — Le dosage des sucres réducteurs. *Bull. Soc. Chim. de France*, 3^e série, 35, 1906, p. 1285; *Bull. des Sc. pharmacol.*, 14, 1907, p. 7.
14. BILTZ (H.) und STEPF (K.). — Über die Chlorirung des Salicylaldehyds. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 37, 1904, s. 4027.
15. BRADLEY (W. P.). — Zur Kenntniss des Disalicylaldehydes. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 22, 1889, s. 1135.
16. BRADLEY (W. P.) and DAINS (F. B.). — On the action of acetylchloride on ortho-hydroxy-aldehydes. *Amer. chem. journ.*, 14, 1892, p. 294.
17. BRENANS (P.). — Contribution à l'étude de composés aromatiques iodés. *Thèse Doct. ès Sciences, Paris*, 1914.
18. BRENANS (P.) et GIROD (Ch.). — Phénols bromoiodés obtenus avec les acides bromo-5- et dibromo-3-5-salicyliques. *C. R. Ac. des Sc.*, 186, 1928, p. 1128.
19. BRENANS (P.) et GIROD (Ch.). — Phénols chloroiodés obtenus avec les acides 5-chloro-et 3-5-dichlorosalicyliques. *C. R. Ac. des Sc.*, 186, 1928, p. 1553.
20. BRENANS (P.) et GIROD (Ch.). — Phénol triiodé obtenu avec les acides iodo-5- et diiodo-3-5-salicyliques. *C. R. Ac. des Sc.*, 186, 1928, p. 1851.
21. BRENANS (P.) et PROST (C.). — Acides salicyliques iodés. *C. R. Ac. des Sc.*, 176, 1923, p. 1626.
22. BRENANS (P.) et PROST (C.). — Sur un nouvel acide salicylique iodé. *C. R. Ac. des Sc.*, 178, 1924, p. 1010.
23. BRENANS (P.) et RAPILLY (B.). — Sur le salicylate de mercure. *C. R. Ac. des Sc.*, 193, 1931, p. 55.
24. BULLMANN (E.) et RIMBERT (E.). — Sur l'action de l'acide hypobromeux sur le phénol et quelques dérivés du phénol. *Bull. Soc. chim. France* (4), 33, 1923, p. 1475.
25. CAHOURS (A.). — Recherches chimiques sur le salicylate de méthylène et l'éther salicylique. *Ann. de Chim. et de Physiq.* (3), 10, 1844, p. 340; *Ann. der Chem.*, 52, 1844, s. 329.
26. CAHOURS (A.). — Recherches sur les acides volatils à six atomes d'oxygène. *Ann. de Chim. et de Physiq.* (3), 13, 1845, p. 108.
27. CAHOURS (A.). — Untersuchungen über das Phenol. *Ann. der Chem.*, 78, 1851, s. 228.

28. CAPPADORO (A.). — Sulla grandezza di affinità degli acidi ossibenzoici alogenati in rapporto alla loro costituzione. *Gaz. chim. ital.* (1), 32, 1902, p. 542.
29. CAROTHERS (W. H.) and ADAMS (R.). — Platinum oxide as a catalyst in the reduction of organic compounds. V. The preparation of primary alcohols by the catalytic hydrogenation of aldehydes. *Journ. Amer. chem. Soc.*, 46, 1924, p. 1680.
30. CLAASZ (M.). — Über einfache und komplexe Eisensalicylate. *Arch. der Pharm.*, 253, 1915, s. 358.
31. CLAISEN (L.). — Über die Umlagerung von Phenolallyläthern in die isomeren Allylphenole. *Ann. der Chem.*, 418, 1919, s. 85.
32. CLAISEN (L.) und TIETZE (E.). — Über die Wanderung des Allyls in den Phenolalkylläthern vom Sauerstoff in orthoständigen Seitenketten. *Ann. der Chem.*, 449, 1926, s. 100.
33. COFMANN (V.). — Sulla preparazione dell' acido diiodosalicilico e la sua solubilità nell' acqua. *Gaz. chim. ital.* (2), 50, 1920, p. 296.
34. COHN (L.) und SCHUTZE (Fr.). — Einwirkung der Kaliumhypohalogenite auf Dikaliumsalicylatelösung. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 38, 1905, s. 3300.
35. DAHMER (G.). — Über die Einwirkung von salpetriger Säure auf einige gebromte Phenole. *Ann. der Chem.*, 333, 1904, s. 363.
36. DANCKWORTH (P.). — Über Kondensationen von Aldehyden und Oxyaldehyden mit Phenolen. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 42, 1909, s. 4169.
37. DATTA (R. L.) and MITTER (H. K.). — Halogenation. XIX. The replacement of sulfonic groups by chlorine and the preparation of organic chloroderivatives. *Journ. Amer. chem. Soc.*, 41, 1919, p. 2037.
38. DE CONINCK (CÉ.) et GÉRARD. — Sur quelques salicylates basiques; *C. R. Ac. des Sc.*, 160, 1915, p. 627.
39. DE CONINCK (CÉ.) et GÉRARD. — Sur les salicylates basiques. *Bull. Soc. chim. France* (4), 17, 1915, p. 283.
40. DEY (B. B.) and ROW (K. K.). — Action of sodium sulphite on coumarine. *Journ. chem. Soc. London*, 125, 1924, p. 560.
41. DIERBACH (R.). — Über Anilidosalicylsäure. *Ann. der Chem.*, 273, 1892, s. 122.
42. DURRANS (Th. H.). — The action of sulphurylchloride on organic substances, II. *Journ. chem. Soc. London*, 123, 1923, p. 1426.

43. EBELMEN. — *Ann. der Chem.*, 3, 1844, s. 338.
44. EARLE (R. B.) and JACKSON (H. L.). — The action of pyrimidine on salicylchlorides. *Journ. Amer. chem. Soc.*, 28, 1906, p. 109.
45. ETTLING (C.). — Untersuchungen über das ätherische Öl der *Spiraea Ulmaria* und die Salicylgesäure. *Ann. der Chem.*, 35, 1840, p. 255.
46. ETTLING (C.). — Über die Destillationsprodukte des salicylg-säuren und Benzoessäurenkupferoxyds. *Ann. der Chem.*, 53, 1845, p. 77.
47. FREER (P. C.). — Einige Reaktionen des Acetessigesters und des Salicylsäureäthylesters. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 47, 1893, s. 241.
48. FRIEDLÄNDLER. — Verfahren zur Darstellung von Phenolalkoholen aus Phenolen durch Formaldehyd. *Fortschritte der Teerfarbenfabrikation*, 4, 1894-97, s. 95. — GALLINEK (A.) et COURANT (E.). — Verfahren zur Darstellung von Dijodsalicylsäureestern. *Id.*, s. 1104.
49. FRIEDLÄNDER. — Verfahren zur Darstellung von p-chlor-o-amidosalicylsäure. *Fortschritte der Teerfarbenfabrikation*, 7, 1902-04, s. 126.
50. GATTERMANN (L.). — Über Harnstoffchloride und deren synthetische Anwendung. *Ann. der Chem.*, 244, 1888, s. 46.
51. GIROD (Ch.). — Sur quelques phénols trihalogénés symétriques. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie)*, Paris, 1929.
52. GOLDBERG (A.). — Über p-oxysalicylsäure. *Journ. für prakt. Chem.*, 19, 1879, s. 368.
53. GREENE (Wh. H.). — On a new synthesis of saligenin. *Amer. chem. journ.*, 2, 1880-81, p. 19.
54. HAND (A.). — Zur Kenntnis einiger Benzolderivate. *Ann. der Chem.*, 234, 1886, s. 133.
55. HANTSCH. — Über Beziehung zwischen Körperfarbe und Konstitution von Säuren, Salzen und Estern. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 39, 1906, s. 3090.
56. HART (M. C.) and HIRSCHFELDER (A. D.). — Mercurycompounds of some phenylcarbinols. *Journ. Amer. chem. Soc.*, 42, 1920, p. 2679.
57. HART (C. M.) and HIRSCHFELDER (A.). — Some derivatives of saligenin. *Journ. amer. chem. Soc.*, 43, 1921, p. 1688.
58. HASSE (G.). — Über die Einwirkung von Tetrakohlenstoff auf substituierte Phenole in alkalischer Lösung. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 10, 1877, s. 2190.
59. HÉBERT (P.). — Sur quelques sels minéraux ou organiques de l'acide iodo-5-salicylique et de l'acide diiodo-3-5-salicylique. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie)*, Paris, 1934.

60. HECHT (J. L.). — Dichlorsalicylic acid. *Amer. chem. journ.*, 12, 1890, s. 502.
61. HEERLEIN. — *Berz. Jahresber.*, 25, 1845, s. 484.
62. HENRY (L.). — Zur Geschichte der Salicylverbindungen. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 2, 1869, s. 275.
63. HENRY (Th. A.) and SHARP (Th. M.). — Mercury compounds of hydroxybenzaldehydes. *Journ. chem. Soc. London*, 121, 1922, p. 1057.
64. HEWITT (Th.), KENNER (J.) and SILK (H.). — The bromination of phenols. *Journ. chem. Soc. London*, 85, 1904, p. 1228.
65. HÜBNER (H.) und BRENKEN (O.). — Untersuchung über Phenole. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 6, 1873, s. 174.
66. HÜBNER (H.) und HEINZERLING (C.). — Über die Natur einiger Bromsalicylsäuren. *Zeits. für Chem.*, 1871, s. 710.
67. HÜBNER (H.), OHLY (J.) und PHILIPP (O.). — Über Isomerien der aromatischen Säuren. *Ann. der Chem.*, 143, 1867, s. 251.
68. HÜBNER (H.) und WEISS (G.). — Überführung der Benzoesäure in Metachloroxybenzoesäure. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 6, 1873, 175.
69. HUTCHINSON (A.). — Note on the reduction of aromatic amides. *Journ. chem. Soc. London*, 57, 1890, p. 957.
70. KAUFFMANN (H.) und EGNER (M.). — Zur Kenntnis der Triphenolcarbinole ; IV. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 46, 1913, s. 3786.
71. KAUTSCHKE (P.). — Über die Einwirkung von Brom auf Salicylsäures und Benzoesäures phenyl-, benzoesaures o-, m- und p-Kresyl und benzoesaures Guajacol. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 51, 1895, s. 211.
72. KENDALL (J.). — Die Dissociationskonstanten organischer Säuren. *Chem. Zentrbl.*, 1, 1914, s. 842.
73. KITASATO (T.). — Die partielle Hydrolyse des Populins zu Saligenin und Benzoylglucose durch ein Enzym der Takadiastase. *Biochem. Zeits.*, 190, 1927, s. 109.
74. KNORR (L.) und HÖRLEIN (H.). — Synthese von Derivation des 3-4-8-trioxyphenanthrens. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 42, 1909, s. 3498.
75. KRAUT (K.). — Über Saliretin. *Ann. der Chem.*, 156, 1870, s. 123.
76. LAPWORTH (A.) and SHOESMITH (J. B.). — Reciprocal induced polarity effects in cresols and their derivatives. Properties of the isomeric methoxybenzylbromides. *Journ. chem. Soc. London*, 121, 1922, p. 1396.
77. LAUTEMANN (Ed.). — Beitrag zur Kenntnis der Salicylsäuren. *Ann. der Chem.*, 120, 1861, s. 299.

78. LEDERER (L.). — Eine neue Synthese von Phenolalkoholen. *Journ. für prakt. Chem.*, 50, 1894, s. 225.
79. LELLMANN (Eug.) und GROTHMANN (R.). — Über einige Derivate der Salicylsäure. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 17, 1884, s. 2728.
80. LESKIEWICZ (J.) und MARCHLEWSKY (L.). — Über die Konstitution des Datiscetins. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 47, 1914, s. 1600.
81. LEULIER (A.). — Contribution à l'étude de l'emploi de l'eau oxygénée en présence d'hydracides. *Thèse Pharmacien sup.*, Lyon, 1923, et *Bull. Soc. chim. France* (4), 35, 1924, p. 1325 ; (1) 39, 1926, p. 29.
82. LEULIER (A.) et PINET (L.). — Chloruration et bromuration des acides oxybenzoïques à l'aide du mélange hydracide et eau oxygénée. *Bull. Soc. chim. France* (4), 41, 1927, p. 1363.
83. LIECHTI (P.). — Untersuchungen über die jodierten Salicylsäuren, die Oxysalicylsäuren und Hypogallussäure. *Ann. der Chem.*, Suppl., 7, 1869-70, s. 133.
84. LINDEMANN (H.) und FORTH (H.). — Zur Kenntnis der Chinnonmethide und Pseudophenolhalogenide. *Ann. der Chem.*, 435, 1924, s. 223.
85. LINDEMANN (H.) und THIELE (H.). — Zur Chemie der benz- α - β -isoxazo's. *Ann. der Chem.*, 449, 1926, s. 73.
86. LÖSSNER (C. W.). — Über das chemische Verhalten von Fünffachchlorantimon zu einigen organischen Verbindungen. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 13, 1876, s. 429.
87. LOEWIG (C.). — Untersuchungen mit dem destillierten Wasser der Blüten von *Spiraea Ulmaria*. *Pogg. Ann. der Physik.*, 46, 1839, s. 68.
88. LOEWIG (C.). — *Berzel. Jahresber.*, 20, 1840, s. 311.
89. MANASSE (O.). — Über eine Synthese aromatischer Oxyalkohole. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 27, 1894, s. 2411.
90. MARTINI (C.). — Sulla costituzione del dichloro-o-cresol. *Gaz. chim. ital.*, 29 (2), 1899, p. 62.
91. MAYER (P.). — Bildung von Saligenin aus Salicylaldehyd durch Hefe. *Biochem. Zeits.*, 62, 1915, s. 459.
92. MAZZARA (G.). — Sopra l'azione del cloruro di solforile sugli ossibenzoati alchilici. *Gaz. chim. ital.*, 29 (1), 1899, p. 342.
93. METTLER (C.). — Die elektrolytische Reduktion aromatischer Carbonsäuren zu entsprechenden Alkoholen. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 38, 1905, s. 1745 ; 39, 1906, s. 2933.

94. METTLER (C.). — Über die elektrolytische Reduktion Benzoesäure und Salicylsäure zu den entsprechenden Aldehyden. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 41, 1908, s. 4148.
95. PAAL (C.). — Zur Kenntnis des p-oxybenzaldehyds. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 28, 1895, s. 2409.
96. PAAL (C.) und SENNINGER (H.). — Über einige Derivative des o-Amidobenzylalkohole. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 27, 1894, s. 1084.
97. PAULI (W.). — Inauguraldissertation Göttingen, 1878 (d'après Hecht, 60).
98. PERATONER (A.). — Sulla costituzione dell acido bibromosalicilico. *Gaz. chim. ital.*, 16, 1886, p. 401.
99. PERATONER (A.). — Sugli acidi mono- e bibromoalchil salicylici. *Gaz. chim. ital.*, 16, 1886, p. 406.
100. PERATONER (A.) e CONDORELLI (G. B.). — Azione del chloruro di solforile sui fenoli e i loro eteri; III. *Gaz. chim. ital.*, 28 (1), 1898, p. 212.
101. PETERS (F.) und SIMONIS (H.). — Über das 2-Methylcumarin. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 41, 1908, s. 837.
102. PINET (L.). — Sur une nouvelle méthode de chloruration et bromuration des acides oxybenzoïques. — Préparation de quelques dérivés halogénés à l'aide du mélange hydracide, eau oxygénée. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie), Lyon*, 1927.
103. PIRIA (R.). — Untersuchungen über das Salicin und die daraus entstehenden Produkte. *Ann. der Chem.*, 30, 1839, s. 169.
104. PIRIA (R.). — Weitere Bemerkungen über die Zusammensetzung des Salicins und seiner Verbindungen. *Ann. der Chem.*, 30, 1839, s. 189.
105. PIRIA (R.). — Zerlegung des Salicins. *Ann. der Chem.*, 48, 1843, s. 75.
106. PIRIA (R.). — Untersuchungen über das Salicin. *Ann. der Chem.*, 56, 1845, s. 37.
107. PROST (C.). — Contribution à l'étude des acides oxybenzoïques iodés. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie), Paris*, 1924.
108. PURGOTTI (A.) e MONTI (N.). — Sopra alcuni nuovi derivati del salolo. *Gaz. chim. ital.*, 34 (1), 1904, p. 277.
109. REINECKE (A.) und BEILSTEIN (F.). — Über die Reduktion der salicyligen Säure zu Saligenin. *Ann. der Chem.*, 128, 1863, s. 179.
110. REISSERT (A.) und CRÄMER (K.). — Zur Kenntnis des o-Aminobenzylalkohols. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 61, 1928, s. 2559.

111. RIVALS (P.). — Recherches thermochimiques sur quelques composés chlorés des séries acétique, benzoïque et salicylique. *Ann. Chim. et Physiq.* (7), 12, 1897, p. 564.
112. ROBERTSON (W.). — The action of nitric acid on bromophenolic compounds. *Journ. chem. Soc. London*, 81, 1902, p. 1482.
113. ROBITSEK (A.) und ANSCHÜTZ (R.). — Über die Einwirkung von Phosphorpentachlorid und phosphortrichlorid auf 3-5-dibromsalicylsäure. *Ann. der Chem.*, 346, 1906, s. 323.
114. ROGERS. — Inaugural Dissertation, Göttingen, 1875, d'après Hecht.
115. ROLLWAGE (R.). — D'après Hübner (H.). Mittheilungen aus den Göttingen Laboratorium. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 10, 1877, s. 1706.
116. RUTOWSKI (B.) und KOROLEW (A.). — Über die elektrolytische Reduktion des Salicylsäure. *Chem. Zentrbl.*, 1928, 2, s. 2353 (d'après *Trans. scient. chem. pharm. Inst. Moskau*, 1928, p. 177).
117. SCHIFF (H.). — Untersuchungen über Salicinderivate. *Ann. der Chem.*, 150, 1869, s. 199 ; 154, 1870, s. 12.
118. SCHMIDT (E.). — Über das Salicin und seine Derivate. *Arch. der Pharm.*, 235, 1897, s. 536.
119. SCHMIDT (O.). — Einwirkung von Brom auf Salicin. *Neues Jahrbuch der Pharm.*, 23, 1865, s. 81.
120. SCHMITH (E. F.) and PEIRCE (G. K.). — On the produkte obtained by the nitration of metachlorsalicylic acid. *Amer. chem. Journ.* 1, 1879-80, p. 176.
121. SCHMITT (R.). — *Jahresb. d. Chem.*, 1864, s. 384.
122. SEIDELL (A.). — Methods for determination of salicylates. *Journ. Amer. chem. Soc.*, 31, 1909, p. 1174.
123. SEIDELL (J.). — Jodsubstitutionsprodukte einiger aromatischer Alkohole, Aldehyde und Säuren. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 59, 1899, s. 105.
124. SHIMA (G.). — Über die elektrolytische Reduktion von Aldehyden ; III ; o- und p-oxybenzaldehyd. *Chem. Zentrbl.*, 2, 1928, s. 2331 (d'après *Memoirs Coll. science, Kyoto, Imp. Univ.*, série A, 11, p. 407).
125. SHOESMITH (J. B.). — The preparation of isomeric methoxybenzylbromids. *Journ. chem. Soc. London*, 123, 1923, s. 2700.

126. SHONO (T.). — Über die Kondensationsprodukte aus Phenolen und Aldehyden. XII-XIII: Zersetzungsproduktes von $C^{14}H^{15}O_2N$. *Journ. chem. Soc. ind. Japon* (Suppl.), **31**, 1928, p. 234 et 252; d'après *Chem. Zentrbl.*, **1**, 1929, s. 49, u. 383.
127. SHRINER (R. L.) and ADAMS (R.). — The preparation of palladous oxyde and its use as a catalyst in the reduction of organic compounds. *Journ. amer. chem. Soc.*, **46**, 1924, p. 1683.
128. SIMONIS (H.) und SCHUMANN (H.). — Über den Aufbau halogenierte Chromone. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **50**, 1917, s. 1145.
129. SIMONIS (H.) und WENTZEL (G.). — Über Tribromocumarin und einige Derivate desselben. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **33**, 1900, s. 1964.
130. SMITH (Ed. J.). *Proc. Amer. Phil. Soc.*, 1877, p. 69; d'après *Ber. chem. deutsch. Ges.*, **11**, 1878, s. 1225.
131. SCHMITH (J.) and MACCHALL (J.). — Über eine dichlorsalicylsäure und einige Abkömmlinge der bei 172° schmelzenden Monochlorsalicylsäure. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **11**, 1878, s. 1227.
132. SOMLO (F.). — Über die elektrolytische Reduktion einiger aromatischer Carbonsäuren. *Zeits. für Elektrochem.*, **35**, 1929, s. 773.
133. STOERMER (R.). — Synthesen und Abbaureaktionen in der Cumaronreihe. *Ann. der Chem.*, **312**, 1900, s. 325 (note).
134. TAFEL (J.). — Über die elektrolytische Reduktion schwer reducirbarer Substanzen in schwefelsaurer Lösung. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, **33**, 1900, s. 2209.
135. TARUGI (N.). — Intorno agli acidi dichlorossibenzoici. *Gaz. chim. ital.*, **30** (2), 1900, p. 487.
136. TESH (K. S.) und LÖWY (A.). — Die elektrolytische Herstellung von Salicylaldehyd und Salicylsäure. *Chem. Zentrbl.*, 1924, **2**, s. 464 (d'après *Trans. Amer. electr. Soc.*, **45**, p. 9).
137. THIÉBAULT (J.). — Sur quelques sels minéraux ou organiques de l'acide dichloro-3-5-salicylique et de l'acide dibromo-3-5-salicylique. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie)*, Nancy, 1935.
138. TITHERLEY (A. W.) and HUGHES (E. Ch.). — 2-phenyl-1-benzoxazine-4-one. *Journ. chem. Soc. London*, **97**, 1910, p. 1375.
139. TITSCHENKO (D.). — Über die Halogenierung aromatischer Verbindungen in wässrigen Lösung. *Chem. Zentrbl.*, 1928, **2**, s. 767.

140. TRILLAT (A.). — Etude de l'oxydation catalytique des alcools (cas de la spirale de platine). *Bull. Soc. chim. France* (3), 29, 1903, p. 45.
141. TUMMELEY (Ed.). — Über Azoverbindungen des Salicylaldehyde, Salicylalkohols und Salicylsäureamids. *Ann. der Chem.*, 251, 1889, s. 179.
142. ULLMANN (F.) und KOPETSCHNI (Ed.). — Über 3-5-dibromanthranilsäure. *Ber. deutsch. Chem. Ges.*, 44, 1911, s. 428.
143. VARNHOLT (L.). — Synthese der isomeren Monochlorsalicylsäuren. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 36, 1887, s. 19.
144. VISSER (H. L.). — Über das Salicin und einige seiner Abkömmlinge. *Nederl. Tijdschr. Pharm.*, 8, p. 296 (d'après *Chem. Zentrbl.*, 1896, 2, s. 921).
145. VISSER (H. L.). — Über die Halogensubstitutionsprodukte des Salicins und seiner Derivate. *Arch. der Pharm.*, 235, 1897, s. 544.
146. VORHEES (V.) and ADAMS (R.). — The use of the oxides of platinum for the catalytic reduction of organic compounds. *Journ. Amer. chem. Soc.*, 44, 1922, s. 1400.
147. WEVEREN (Th.). — Über die Darstellung von Chlor-, Brom- und Jodsälicylsäure (meta). *Arch. der Pharm.*, 235, 1897, s. 566.
148. WEILL (H.). — Über die Reduktion von Salicylsäure zu Salicylaldehyd. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 41, 1908, s. 4147.
149. WEILL (H.), TRAUN (M.) und MARCEL (S.). — Über die Reduktion substituierten Salicylsäuren. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 55, 1922, s. 2664.
150. WEINLAND (F.) und ZIMMERMANN (K.). — Über Eisenverbindungen der Salicylsäure. *Arch. der Pharm.*, 255, 1917, s. 223.
151. WERNER (E.). — Sur les substitutions bromées dans la série aromatique. *Bull. Soc. chim. France* (2), 46, 1886, p. 277.
152. WESELSKY (P.). — Über die Darstellung von Jodsubstitutionsprodukten nach der Methode mit Jod und Quecksilberoxyd. *Ann. der Chem.*, 174, 1874, s. 103.
153. WITTIG (G.). — Zur Erschließung der Benzo- γ -pyrone. *Ann. der Chem.*, 446, 1925, s. 190.
154. ZELTNER (J.) und LANDAU (M.). — Verfahren zur Darstellung von Phenolcarbonsäuren. *Chem. Zentrbl.*, 1913, 2, s. 1641.
155. ZINCKE (Th.). — Über die Einwirkung von Brom und Chlor auf Phenole : Substitutionsprodukte Pseudobromide und pseudochloride ; XX. — ZINCKE (Th.) und HEDENSTRÖM (A.). — Über die Einwirkung von Brom auf o-Kresol. *Ann. der Chem.*, 350, 1906, s. 279.

156. ZINCKE (Th.) und WALBAUM (H.). — Über die Einwirkung von Chlor auf Oxybenzoesäuren. *Ann. der Chem.*, 261, 1890-91, 252.
157. ZWENGER (C.). — Über Cumarsäure, Hydrocumarin und Hydrocumarinsäure. *Ann. der Chem.*, Suppl., 8, 1870-72, s. 42.

II. — RÉFÉRENCES CONCERNANT LA PARTIE BACTÉRIOLOGIQUE

158. ANDERSON (J. F.) and Mc. CLINTIC (Th. B.). — Method of standardising desinfectants with and without organic matter. *Journ. of inf. dis.*, 8, 1911, p. 1.
159. ARKIN (A.). — On the antiseptic and bactericidal action of the sodium salts of iodobenzoïc, iodosobenzoïc and iodoxybenzoïc acids. *Journ. of Pharmacol.*, 3, 1912, p. 145.
160. AUGUSTIN. — Interessante Anwendungsgebiete für Nipagin. *Parfumerie Ztg.*, 1929, s. 15-147.
161. AUGUSTIN (J.). — Desinficierende Seifen unter Berücksichtigung ihrer Milde und Geruchlosigkeit. *Seifensieder Ztg.*, 58, 1931, s. 307.
162. BACH (D.). — Etude des antiseptiques : mécanisme de l'action antiseptique des acides organiques sur quelques bactéries. *Bull. des Sc. pharmacol.*, 1932, p. 425 et 449.
163. BALDINGER (L. H.) and NIEUWLAND (Y. A.). — The relation of some physical properties to bactericidal action of some α -phenylsubstituted acids. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 22, 1933, p. 711.
164. BARTLETT (J. F.) and GARLAND (C. E.). — Some cyclohexylphenols and phenolethers. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 49, 1927, p. 2098.
165. BAYLE (P.). — Sur la toxicité du pentachlorophénol. *Thèse Doct. univ.* (Pharmacie), Lyon, 1924.
166. BECHHOLD (H.). — Desinfektionsmittel und ihre Prüfung. *Zschr. für angew. Chem.*, 22, 1909, s. 2033.
167. BECHHOLD (H.). — Desinfektion und Kolloidchemie. *Zschr. für Chem. und Ind. der Kolloide*, 5, 1909, s. 22.
168. BECHHOLD (H.). — Halbspezifische chemische Desinfektionsmittel. *Zschr. für Hyg.*, 64, 1909, s. 113.
169. BECHHOLD (H.). — Halbspezifische Desinfektionsmittel, I. *Münchn. Med. Wochschr.*, 61, 1914, s. 1929.
170. BECHHOLD (H.). — Halbspezifische Desinfektionsmittel, II ; Ein Beitrag zur Kenntnis von den biochemischen Eigenschaften der Halogennaphtole. *Zschr. für Hyg. und Infektkk.*, 84, 1917, s. I.

171. BECHHOLD (H.) und EHRLICH (P.). — Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Desinfektionswirkung (Ein Beitrag zum Studium des « inneren Antisepsis »). *Zschr. für physiol. Chem.*, 47, 1906, s. 173.
172. BECKMANN (J. W.). — Über den Einfluss des Zusatzes von Chlornatrium auf die Wirkung des Pheno's. *Zentrbl. für Bakter.*, 20, 1896, s. 577.
173. BEHRE (A.). — Technische Hilfsmittel bei der Herstellung von Lebensmitteln. *Chem. Ztg.*, 54, 1930, ss. 327 u. 346.
174. BEHRE (A.) und SEGIN (A.). — Über die Wirkung der Konservierungsmittel. *Zschr. Unters. Nahrungs und Genussmittel*, 12, 1906, s. 46.
175. BEHRING (E.). — Über Desinfektion. Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. *Zschr. für Hyg.*, 9, 1890, s. 395.
176. BERTHELTSEN (K. C.). — Untersuchungen über mikrobiologische Verhältnisse in Wässerigen Lösungen. *Pharm. Zentralkalle*, 70, 1929, s. 37.
177. BERTRAND (G.). — Influence des acides sur l'action de la lac-case. *C. R. Ac. des Sc.*, 145, 1907, p. 340 et *Bull. Soc. Chim. France*, 4, 1, 1907, p. 1120.
178. BERTRAND (G.) und ROSENBAUD (M.). — Action des acides sur la peroxydiastase. *C. R. Ac. des Sc.*, 148, 1909, s. 297 et *Bull. Soc. Chim. France*, 4, V-VI, 1909, p. 296; *Ann. Inst. Pasteur*, 23, 1909, p. 314.
179. BIERMANN (G.). — Über die konservierende Wirkung der Benzoesäure. *Zschr. Fleisch. und Milchhyg.*, 43, 1932, ss. 21 u. 41.
180. BLEYER (L.). — Über einige Wirkungen der Alkylresorcincarbonsäuren und ihre Abhängigkeit von der Konstitution der Alkylseitenkette. *Biochem. Zschr.*, 181, 1927, s. 350.
181. BLEYER (B.), DIEMAIR (W.) und LEONHARD (K.). — Über den Einfluss von Konservierungsmitteln auf enzymatischen Vorgänge. *Arch. der Pharm.*, 271, 1933, s. 539.
182. BLYTH (W.). — The standardisation of desinfectants. *Journ. Soc. Chem. ind.*, 23, 1906, p. 1183.
183. BOAS (F.). — Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipide beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle. *Biochem. Zschr.*, 129, 1922, s. 144, u. *Ber. deutsch. botan. Ges.*, 40, 1922, s. 32.
184. BOESEKEN (J.) und WATTERMANN (H.). — Über die Wirkung einiger Kohlenstoffderivate auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum* und ihre hemmende Wirkung in Beziehung zu ihrer Löslichkeit in Wasser und Öl. *Koninkl. Akad. von Wetensch., Amsterdam Wisk. en Mrtk. Afd.* 20, 1911, p. 965, in *Chem. Ztrbl.*, 1912, II, s. 1580.

185. BOESEKEN (J.) und WATERMANN (H.). — Über die Wirksamkeit einiger Benzolderivate auf die Entwicklung von *Penicillium glaucum*. *Koninkl. Akad. von Wetensch., Amsterdam Wisk. en Mrtk. Afd.*, 20, 1911, p. 552, in *Chem. Ztrbl.*, 1912, II, s. 1480.
186. BOESEKEN (J.) und WATERMANN (H.). — Über eine biochemische Methode zur Bestimmung kleiner Mengen Salizylsäure neben überschüssiger p-oxybenzoesäure. *Koninkl. Akad. von Wetensch., Amsterdam Wisk. en Mrtk. Afd.*, 20, 1911, p. 548, in *Chem. Ztrbl.*, 1912, II, s. 1503.
187. BÖHM (E.) und JEGLENSKI (H.). — Konservierende Wirkung des Nipagins und seiner Homologen auf pharmatische Präparate. *Pharm. Ztg.*, 73, 1928, s. 480; *Apoth. Ztg.*, 41, 1926, s. 635; *Chem., Ztg.*, 51, 1927, s. 301.
188. BOKORNY (Th.). — Pilzfeindliche Wirkung chemischer Stoffe. Chemische Konservierung. *Ztrbl. für Bakt. u. Parskd.*, II Abt., 37, 1913, s. 168.
189. BONDE (W.). — Beitrag zur Konservierung von Augentropfen mit Nipasol und Nipagin. *Pharm. Zentralhalle*, 73, 1932, s. 611.
190. BONDE (W.). — Beitrag zur Verwendbarkeit von Nipasol und Nipagin als Konservierungsmittel für sterile Injektionslösungen. *Pharm. Zentralhalle*, 73, 1932, s. 273.
191. BRISOU (M. et J.). — Absence de toxicité de certains dérivés halogénés en injections sous-cutanées. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1390.
192. BRISOU (J.). — Action de divers dérivés halogénés sur la fermentation lactique des tissus animaux normaux et cancéreux *in vivo* et *in vitro*. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1391.
193. BROUARDEL. — Rapport sur le salicylage des substances alimentaires. *Ann. hygiène publique*, 10, 1883, p. 226 et 11, 1884, p. 396.
194. BROW (J. B.) and WIKOFF (H. L.). — *Ann. applied Biol.*, 14, 1927, p. 436, in SABALITSCHKA (Th.), und TIETZ, cf. 491.
195. BRUERE (P.). — Construction d'échelles colorimétriques stables pour la mesure des indices Ph. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, (8), 3, 1926, p. 377.
196. BRUERE (P.). — Echelles colorimétriques stables pour exploration rapide de la zone acido-alcaline faible; leur emploi à l'essai de quelques sels hydrosolubles du Codex. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, (8), 4, 1926, p. 241.

197. BUCHGRABER (J.). — Die Anwendung der p-oxybenzoesäureester zur Sterilisierung Injektionsflüssigkeiten. *Magyar Gyogyszeresztudományi, Org. d. Wissensch. Gesell. d. Apoth. Ung.* 7, 1931, p. 337 in *Chem. Ztrbl.*, 1931, II, s. 1588 et BUCCHI, cf. 199.
198. BUCHHOLTZ (L.). — Antiseptica und Bakterien. *Arch. für exper. Path. und Pharmakol.*, 4, 1875, s. 1-81.
199. BÜCHI (J.). — Über die p-oxybenzoesäure Ester und ihre Verwendung zur Haltbarmachung pharmaceutischer Zubereitungen. *Pharm. Acta Helv.*, 8, 1933, s. 27.
200. BÜCHI (J.) und MÜLLER. — Über die Eignung wässriger Lösungen von Trockenextrakten der Pharmacopoe Helvetica V als Ersatz für einige frischbereitete Dekokte und Infuse. *Pharm. Acta Helv.*, 7, 1932, ss. 247 u. 378.
201. BUDDE (Th.). — Der Kakaobutter und die Haltbarkeit der Suppositorien. *Apoth. Ztg.*, 41, 1926, s. 1387.
202. BUDDE (Th.). — Altes und neues über Sterilisation. *Apoth. Ztg.*, 46, 1931, s. 73.
203. CANNEYLEY (Th.), ABERDEEN (Sc.) and FREW (W.). — The relative antiseptic Powers of isomeric organic compounds. *Journ. chem. Soc. London*, 57, 1890, 636.
204. CAYROL (P.). — Action de divers dérivés halogénés sur la fermentation alcoolique. *C. R. Ac. des Sc.*, 193, 1931, p. 446.
205. CAYROL (P.). — Recherches sur l'action des acides halogénés et de leurs esters sur les cellules de levure. *Ann. de Physiol. et de Physicochimie biol.*, 11, 1933, p. 1000.
206. CAYROL (J.) et GENEVOIS (L.). — Inhibition spécifique de la fermentation alcoolique des cellules de levures sans arrêt de la respiration, ni de la réaction de Pasteur-Meyerhoff, ni de la croissance. *C. R. Ac. des Sc.*, 192, 1931, p. 1494.
207. CESAR PI SUNER BAYO. — Über das gegensätzliche Verhalten der Alkaliverbindungen von Salizylsäure, Benzoesäure und p-oxybenzoesäureestern gegenüber Mikroorganismen. *Arch. der Pharm.*, 267, 1929, s. 669.
208. CHASSEVANT (A.). — Action antiseptique et physiologique du benzène. *Archiv. Internat. de Pharmacodynamie*, 2, 1896, p. 235.
209. CHASSEVANT (A.) et GARNIER (M.). — Rapports entre la constitution chimique des corps et leur toxicité dans la série aromatique (benzène et ses dérivés). *Arch. Internat. de pharmacodynamie et de thérapie*, 14, 1905, pp. 94-170.

210. CHEESEWORTH (H. D.) and COOPER (E. A.). — An contributed to our knowledge of disinfectant action. III : Unsaturated compounds as germicides. *Journ. of Physical chem.*, 33, 1929, p. 720.
211. CHICK (H.) and MARTIN (C. J.). — The principles involved in the standardisation of disinfectants and the influence of organic matter upon germicidal value. *Journ. of Hyg.*, 8, 1908, p. 654.
212. CHICK (H.) and MARTIN (C.). — A comparison of the power of a germicide emulsified or dissolved, with an interpretation of the superiority of the emulsified form. *Journ. of Hyg.*, 8, 1908, p. 698.
213. CHRISTIAN. — Die Salizylsäure als Konservierungsmittel. *Hyg. Rundschau*, 18, 1908, s. 1321.
214. CHRISTIANSEN (J.). — Zur Theorie und Praxis der Alkoholdesinfektion. *Zschr. für physiol. Chem.*, 102, 1918, s. 275.
215. CHRISTOMANOS (A. A.). — Zur Pharmakologie einiger Phenylalkohole. *Biochem. Zschr.*, 169, 1926, s. 344.
216. CLARK (W. H.). — The determination of hydrogen-ions, 1920, un vol., Williams and Wildhing company, Baltimore.
217. CLINCTIC (Mc.) and THOMAS (B.). — The determination of the phenol coefficient of some commercial disinfectants. *Treasury departm., Public Health and Marine hosp. service of the Unit. States, Hyg. Lab. Bull.* n° 82, Washington, 1912, in *Ztrbl für Bakt u. s. w., refer.*, 56, 1912, p. 235.
218. COHEN (B.). — The effect of temperature and hydrogen ion concentration upon the viability of bact. coli and bact. typhosum in Watter. *Journ. of bact.*, 7, 1922, p. 183-230 in *Chem. Ztrbl.*, 1922, 111, s. 885.
219. COHN (G.). — Die antiseptischen Eigenschaften der Phenolalkohole. *Zschr. für Hyg.*, 26, 1898, s. 377.
220. CONDELLI (S.). — Gli antisettici attaccati dai microorganismi. *Boll. chim. farm.*, 54, 1915, p. 353 in *Chem. Ztrbl.*, 1916, I, s. 946.
221. COOPER (E. A.). — On the relation of the phenols and their derivatives to proteins. A contribution to our Knowledge of the mechanism of disinfection. Part. III. The chemical action of quinone upon proteins. *Biochemical Journ.*, 7, 1913, p. 186.
222. COOPER (E. A.) and FORSTNER (G. E.). — Studies on selective bactericidal action. *Biochemical Journ.*, 18, 1924, p. 941.

223. COOPER (E. A.) and MASON (J.). — A contribution to our knowledge of disinfectant action. *Journ. of physical Chem.*, 32, 1928, p. 868.
224. COOPER (E. A.) and SANDERS (Ed.). — On the relations of phenol to proteins and other colloids. A contribution our knowledge of disinfectant action. *Journ. of physical Chem.*, 31, 1927, pp. 1-22.
225. COOPER (E. A.) and WOODHOUSE (D. L.). — On the relation of the phenols and their derivatives to protein. A contribution to our knowledge of the mechanism of disinfection. *Biochemical journ.*, 17, 1923, p. 600.
226. COULTHARD (C. E.). — The disinfectant and antiseptic properties of amyl-m-cresol. *Brit. journ. exp. Pathol.*, 12, 1931, p. 331.
227. COULTHARD (C. E.), MARSHALL (J.) and PYMAN (B. L.). — The variation of phenol coefficients in homologous series of phenol. *Journ. Chem. Soc. London*, 133, 1930, p. 280.
228. COURMONT (P.), MOREL (A.) et BAY (I.). — Pouvoir infertilisant de quelques essences végétales vis-à-vis du bacille tuberculeux in vitro. *Parfumerie moderne*, 21, 1928, pp. 161 et 165.
229. COZIC (M.). — Inhibition de la croissance et de la respiration du *Bacterium xylinum* par divers dérivés halogénés. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1387.
230. CREMER (H.). — Einfluss von Konservierungsmitteln auf avitaminosekranke Tiere. *Zschr. Unters. Lebensmitt.*, 67, 1934, s. 205.
231. CRUESS (W. V.) and IRISH (J.). — Further observations on the relation of Ph value to toxicity of preservatives to microorganismus. *Journ. of bact.*, 23, 1932, p. 163.
232. CRUESS (W. V.) and RICHERT (P. H.). — Effect of hydrogen ion on the toxicity of sodium benzoate to microorganismus. *Journ. of bact.*, 17, 1929, p. 363.
233. CRUESS (W. V.), RICHERT (P. H.) and IRISH (J. H.). — Effect of hydrogen ion on the toxicity of several preservatives to microorganismus. *Hilgardia, Journ. of agricult. science*, 6, 1921, p. 295.
234. DAKIN et DUNHAM. — *Manuel des antiseptiques* (traduit par M. Daufresnes). Vigot, Edit., Paris, 1918.
235. DANIELS (T. C.) and LYONS (R.E.). — Concerning the physical properties of certain phenylsubstituted acids in relation in their bactericidal power. *Journ. of physic. chem.*, 35, 1931, p. 2049.

236. DAVID (R.). — Contribution à l'étude numérique de la multiplication du bacille pyocyanique dans différents milieux de culture liquides. Influence de la teneur des milieux en certains éléments nutritifs. *Thèse Doct. ès Sc. nat.*, Paris, 1931.
237. DE CLERCQ (A.). — L'infection microbienne des produits pharmaceutiques. *Journ. de pharm. de Belgique*, 16, 1934, p. 435.
238. DELCOURT-BERNARD (E.). — L'expertise des substances antiseptiques. *Revue d'hyg.*, n°s 6 et 7, juin 1926.
239. DELÉPINE (Sh.). — Contribution to the study of chemical disinfectants. *Journ. of the Soc. of chem. ind.*, 29, n° 23, 15 décembre 1910.
240. DIETRICH (K. R.) und BÖHM (E.). — Über die Konservierung von Zuckersäften. *Pharm. Ztg.*, 71, 1926, s. 496.
241. DIETZEL und HUSZ (W.). — Die Zersetzlichkeit des Morphins in wässriger Lösung insbesondere bei der Sterilisation. *Arch. der Pharm.*, 266, 1928, s. 641.
242. DIETZEL (R.), SCHLEMMER (F.) und FISCHER (R.). — Weitere Untersuchungen über die Zersetzlichkeit pharmazeutischwichtiger Alkaloïde in wässriger Lösung, insbesondere bei der Sterilisation : Solanazeenalkaloïde, Yohimbin, Hydrastin, Hydrastinin. *Arch. der Pharm.*, 267, 1928, s. 468.
243. DIETZEL (R.) und SÖLLNER (K.). — Über die Zersetzlichkeit von Alkaloïden in wässriger Lösung insbesondere bei der Sterilisation : Berberin. *Arch. der Pharm.*, 268, 1930, s. 223 ; *Apoth. Ztg.*, 45, 1930, s. 1030.
244. DOHME (A. R. L.), COX (E. H.) and MILLER (E.). — The preparation of the acyl and alkyl derivatives of resorcinol. *Journ. Amer. chem. Soc.*, 48, 1926, p. 1688.
245. DOUGALL. — *Medic Times*, 27, avril 1872, d'après LEHMANN.
246. DUCHACEK (F.). — Einwirkung verschiedener Antiseptica auf die Enzyme des Hefepreszsaftes. *Biochem. Zschr.*, 18, 1909, s. 211.
247. DUMAS (Y.). — Contribution à l'étude du pouvoir antiseptique et infertilisant du benzène et de quelques-uns de ses dérivés halogénés. *Thèse Doct. univ.* (Pharmacie), Lyon, 1934.
248. EGGERTH (A. H.). — Germicidal and hemolytic action of α -bromsoaps. *Journ. expl. med.*, 49, 1929, p. 53.
249. EGGERTH (A. J.). — Germicidal action of hydroxysoaps. *Journ. expl. med.*, 50, 1929, p. 299.

250. EICHHOLZ (W.). — Geschichte der Desinfektion und kurze Bemerkungen zur Theorie der Wirkung der chemischen Desinfektionsmittel und Antiseptica. *Desinfektion*, 6, 1921, s. 273.
251. EINAR LUNDGAARD. — Die Monojodessigsäurewirkung auf die enzymatische Kohlenhydratspaltung. — Über die Einwirkung der Monojodessigsäure auf den Spaltungs- und Oxydationswechsel. *Biochem. Zsch.*, 220, 1930, ss. 1 u. 8 ; 250, 1932, s. 61.
252. EISENBERG (P.) und OKOLSKA (M.). — Untersuchungen zur Theorie der Desinfektion. *Ztrbl. für Bakt. u.s.w.*, 1 Abt., 69, s. 312.
253. ELLIOTT (D. C.) and BARBOUR (H. G.). — A sensitive test for hexylresorcinol in body fluids and notes on its application. *Canad. med. Assoc.*, 15, 1925, p. 787.
254. EMDE (H.). — Zur Kenntnis der Kresole des Handels. *Apoth. Ztg.*, 22, 1907, s. 104.
255. EMERY, d'après LEGENDRE, BARRETTE et LEPAGE, cf. 379.
256. ENGELHARDT (W. E.). — Über die antiseptische Wirkung des Phenols und des p-chlorophenols in Lösungsmitteln verschiedener Dielektrizitätskonstante. *Biochem. Zschr.*, 190, 1927, s. 217.
257. ESCHBAUM (F.). — Über das Guttameter und seine Anwendung auf die Untersuchung von Arzneimitteln und Giften. *Ber. deutsch. pharm. Ges.*, 28, 1918, s. 397.
258. ESCHENBRENNER (H.). — Die Haltbarmachung der Suppositorien. *Pharm. Ztg.*, 72, 1927, s. 469.
259. ESCHENBRENNER (H.). — Über die Notwendigkeit der Haltbarmachung einiger pharmazeutischer Präparate mit besonderer Berücksichtigung von Pillen. *Pharm. Ztg.*, 74, 1929, s. 742.
260. ESCHENBRENNER (H.). — Über Konservierung von Augentropfen mit dem Propylester der p-oxybenzoesäure (Nipasol). *Apoth. Ztg.*, 42, 1932, s. 630.
261. ESCHENBRENNER (H.). — Zur Sterilisierfrage in der pharmazeutischen Praxis. *Ztrbl. für Pharm.*, 1932, n° 11.
262. ESCHENBRENNER (H.). — Ein Beitrag zur Frage der Sterilisation in der pharmazeutischen Praxis unter besonderer Berücksichtigung der baktericiden Wirkung der p-oxybenzoesäureester. *Pharm. Monatshefte*, 14, 1933, s. 6.
263. ESCHENBRENNER (H.). — Altes und neues über Haltbarmachung und Sterilisation von Arzneimitteln. *Pharm. Zentralhalle*, 75, 1934, s. 17.

264. ESCHENBRENNER (H.) und KOHN (R.). — Ein Beitrag zur Pharmakologie des Propylesters der p-oxybenzoesäure (Nipasol). *Pharm. Ztg.*, 77, 1932, s. 275.
265. ESCHENBRENNER (H.) und ROSENBERG (G.). — Theoretische und praktische Versuche über Anwendung von Nipasolnatrium als Sterilisations und Konservierungsmittel in der Apotheke. *Ztrbl. für Bakt. u.s.w.*, 1 Abt., (Orig.), 122, 1931, s. 517 ; *Pharm. Ztg.*, 76, 1931, s. 1316.
266. ESCHENBRENNER (H.) und STOESZ. — Über Entkeimung. *Pharm. Ztg.*, 78, 1933, ss. 519 u. 530.
267. ETINGER (R.), TULCZYNSKA (R.) und ULRICH (W.). — Über die keimtötende Wirkung von gemischen verschiedenen Monochlororderivate von Phenolhomologen. *Zschr. für Hyg.*, 113, 1932, s. 436.
268. EULER (B.) und EULER (H.). — Giftwirkung auf Enzyme in der lebenden Zelle. *Fermentforsch.*, 1, 1916, s. 465.
269. FLECK. — Benzoesäure, Carbolsäure, Salizylsäure, Zimtsäure, Feststellung ihrer Wertes als Desinfektionsmittel, Dresden, 1875, d'après LEHMANN, cf. 381.
270. FLEISCHER und AMSTER. — Über den Einfluss der Reaktion des Mediums auf die Desinfektionswirkung organischer Farbstoffe. *Zschr. für Immunitätsforsch.*, 37, 1922, s. 327.
271. FLURY (F.) und ZERNIK (F.). — In Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden von E. ABDERHALDEN, 1928, d'après SCHÜBEL (K.) und MANGER (J.), cf. 506.
272. FOWLER (C.). — Some disinfectants values. *Journ. of roy. Amer. corps*, 9, 1907, p. 44, d'après CHICK.
273. FRAENKEL (S.). — Die Arzneimittelsynthese (auf Grundlage der Beziehungen zwischen chemischen Aufbau und Wirkung für Ärzte, Chemiker und Pharmazeuten). Berlin, 1927, 6 Auflage.
274. FREI (W.). — Versuche über Kombination von Desinfektionsmitteln. *Zschr. für Hyg. und Infektkkh.*, 75, 1913, s. 431-496.
275. FREI (W.) und MARGADANT (Ch.). — Zur Theorie und Praxis der Desinfektion mit Kresolseifenlösungen unter spezieller Berücksichtigung der Elektrolytwirkung. *Zschr. für Infektkkh. und Hyg. d. Haust.*, 15, 1914, s. 273 und 350.
276. FRIEDENTHAL (H.). — Absolute und relative Desinfektionskraft von Elementen und chemischen Verbindungen. *Biochem. Zschr.*, 94, 1919, s. 47.

277. FRIES (K. A.). — Eine einfache Methode zur genauen Bestimmung der Bakterienmengen in Bakteriensuspensionen. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, I Abt. (Orig.), 86, 1921, s. 90.
278. FROBISCHER (M.). — Studies upon the relations hip between surface tension and the action of disinfectants with special reference to hexylresorcinol. *Journ. of Bakt.*, 13, 1927, p. 163.
279. GAROFEANU (M.) et JEAN (E.). — Sur l'action bactéricide du salicylate de soude. *C. R. Soc. de Biol.*, 104, 1930, p. 513.
280. GENEVOIS (L.). — Action des dérivés organiques halogénés sur les cellules vivantes. *Bull. dipl. Fac. Pharm. Nancy*, mai 1934, n° 8.
281. GENEVOIS (L.) et BRISOU (J.). — Absence de toxicité des mélanges d'acides halogénés et de leurs esters par voie buccale. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1389.
282. GENEVOIS (L.), CAYROL (P.) et NICOLAÏEFF (T.). — Action de divers dérivés halogénés sur la cellule des champignons inférieurs (levures et moisissures). *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1382.
283. GENEVOIS (L.) et KIRMANN (A.). — Action des aldéhydes et des cétones halogénés sur les cellules de levure. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1383.
284. GENEVOIS (L.) et NICOLAÏEFF (T.). — Action de divers dérivés halogénés sur la fermentation lactique bactérienne. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1385.
285. GLASER (E.) et PRÜFER (H.). — Über die Synthese des Metanitroresolglucosids und über die Desinfektionskraft des Metanitrokresols. *Biochem. Zschr.*, 137, 1923, s. 429.
286. GLASER (E.) und WULWEK (W.). — Über neue synthetisch dargestellte Nitrophenolglucoside nebst Beiträgen zur Desinfektionskraft und Giftigkeit der Nitrophenole. *Biochem. Zschr.*, 146, 1924, s. 514.
287. GÖSSL (J.). — Zur Kenntnis der lipoïdlösenden Desinfektionsmittel. *Zschr. für physiol. Chem.*, 88, 1913, s. 103.
288. GREIFF (W.). — Zur Frage der Sterilität von fabrikmässig hergestellten sterilisierten Verbandstoffen. *Ztrbl. für Bakt.*, u. s. w., I Abt., 117, 1930, s. 146 ; *Pharm. Ztg.*, 75, 1930, s. 901.
289. GUEGUEN. — Sur une méthode précise de détermination des pouvoirs antiseptiques. *C. R. Soc. de Biol.*, 64, 1908, p. 344.
290. GUILLAUMIN (C.). — Sur deux isomères nouveaux du thymol. Etude chimique et pharmacologique. *Bull. des Sc. pharmacol.*, 17, 1910, p. 373.

291. GUILLOT (P.). — Le tétrachlorophénol. Etude de sa toxicologie et de son pouvoir antiseptique. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie)*, Lyon, 1924.
292. HAILER (E.). — Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife. I : Die Kresolalkalilösungen und ihre Desinfektionswirkung. *Arb. a. d. Reichs Gesundheitsamtes*, 51, 1920, s. 556.
293. HAILER (E.). — Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife. II. *Arb. a. d. Reichsgesundheitsamtes*, 52, 1920, s. 253.
294. HAILER (E.). — Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife. III : Kresotinsäure Salze als Lösungsmittel für das Kresol. *Arb. a. d. Reichs Gesundheitsamtes*, 52, 1920, s. 670.
295. HAILER (E.). — Über Kresole und Ersatzmittel für Kresolseife. IV : Zur Methode der Desinfektionswertprüfung bei Kresolen. *Arb. a. d. Reichsgesundheitsamtes*, 52, 1920, s. 696.
296. HAILER (E.). — Zur vergleichenden Prüfungs- und Wertbestimmungsmethodik für Desinfektionsmittel. *Deutsch. med. Wochschr.*, 47, 1921, s. 1384.
297. HAILER (E.). — Die chemische Grundlagen der Desinfektionswirkung. *Ztrbl. für Bakt., u. s. w.*, I Abt., 89, 1922, s. 2*—15* ; *Desinfektion*, 8, 1923, s. 62.
298. HAILER (E.). — Über das Verhalten der Tuberkelbacillen gegenüber keimtötenden Stoffen. *Deutsch. med. Wochschr.*, 54, 1928, s. 1918.
299. HAHN (M.). — Zur Theorie und Praxis der chemischen Desinfektion. *Zschr. für Hyg. und Infektkkh.*, 98, 1922, s. 569.
300. HAMMERL. — Über die baktericide Fähigkeit und Giftigkeit der drei isomeren Kresole und des Phenols. *Hyg. Rundschau*, 9, 1899, s. 1018.
301. HAMMERL. — Über den Desinfektionswert des Trikreso's. *Arch. für Hyg.*, 21, 1894, s. 198.
302. HAMPIL (B.). — The effects of pur soaps on the bactericidal properties of phenolic germicides. *Journ. of. Bact.*, 16, 1928, p. 287.
303. HAMPIL (B.). — Bactericidal properties of the acyl and alkyl derivatives of resorcinol. *Journ. of infect. Dis.*, 43, 1928, p. 25.
304. HANDA (H.). — Beiträge zum biologischen Verhalten der Tuberkelbacillen. *Jap. Zschr. f. Militärärzte*, 1917, in *Ztrbl. für Bakt., u. s. w. (Ref.)*, 72, 1921, s. 156.

305. HANTZSCH (A.). — Über die Konstitution der Carbonsäuren sowie über die optischen und chemischen Vorgänge bei der Bildungs von Estern, Salzen und Ionen. *Ber. deutsch. chem. Ges.*, 50, 1917, s. 1422.
306. HEIDE (C. v. d.) und FÖLLEN (R.). — Über das Mikrobin. *Zschr. für Untersuchung der Lebensmittel*, 53, 1927, s. 487.
307. HEIDUSCHKA (A.) und FÖRSTER (J.). — Beiträge zur Kenntnis des Pepsins. *Arch. der Pharm.*, 270, 1932, s. 419.
308. HELLEBRAND (W.) und JOACHIMOGLU (G.). — Über die antiseptische Wirkung des Sublimats in Lösungsmitteln verschiedener Dielektrizitätskonstanten. *Biochem. Zschr.*, 153, 1924, s. 131.
309. HÉRISSEY (H.). — Altérations et conservation des médicaments chimiques et galéniques. *Thèse Agrégation Pharmacie, Paris*, 1909.
310. HERTER (C. A.). — Action of sodium benzoate on the multiplication and gas production of various bacteria. *Journ. of biol. chem.*, 7, 1910, p. 59.
311. HERZOG (R. O.) und BETZEL (R.). — Zur Theorie der Desinfektion. *Zschr. für physiol. Chem.*, 67, 1910, s. 309 ; 74, 1911, s. 221.
312. HEWLETT and KENWOOD. — Some observation upon the practical standardisation of disinfectants. *Journ. of roy. san. inst.*, 27, 1906, p. 1.
313. HIRSCHFELDER, HART and KUCERA. — Mercury saligenin a new antiseptic. *Journ. of Pharmacol.*, 17, 1921, p. 325 ; *Proc. Soc. Exptl. biol. med.*, 18, 1920, p. 77.
314. HIRSCHFELDER (A. D.) and PANKOW (L. J.). — Comparison of the antiseptic action of various aromatic ethoxy and hydroxy compounds upon the pneumococcus and the gonococcus. *Journ. of pharmacol.*, 19, 1922, 248 ; *Proc. of the Soc. f. exptl. biol. and med.*, 19, 1921, p. 64.
315. HOLLAENDER (M. B.). — Dissertation, Berlin, 1929, d'après Th. Sabalitschka, cf. 475.
316. HOUBEN. — Fortschritte der Heilstoffchemie. II: Aromatische Verbindungen. Walter de Gruyter und Co, Berlin, Leipzig.
317. HOUBEN (J.) und WOLLENBER (H. W.). — Hexylresorcin und Phenyläthylresorcin gegen pflanzenpathogenen Pilze. *Biochem. Zschr.*, 204, 1929, s. 448.
318. ISHIWARA (F.). — Baktericide Kraft und chemische Struktur. *Zschr. für Immunitätsforsch. und exper. Ther.* (1), 40, 1924, s. 429.

319. JAHN (F.). — Über Iodosobenzoesäure. *Arch. für exper. Pathol. und Pharmak.*, 76, 1914, s. 21.
320. JANKE (A.) und BERAN (F.). — Über die mikrobicide Wirkung von organischen Säuren und ihren Kupfersalzen. *Arch. Mikrobiol.*, 4, 1933, s. 54.
321. JENNSSEN (H. H.). — An experimental study of certain benzyl compounds with especial attention to the importance of substitution in the benzyl nucleus and the significance of the side chains. *Journ. of pharmacol. and exper. therap.*, 26, 1926, p. 123.
322. JOACHIMOGLU (G.). — Über den Einfluss der Wasserstoffionkonzentration auf die antiseptische Wirkung des Sublimats. *Biochem. Zschr.*, 130, 1922, s. 239 ; 134, 1922, s. 489.
323. JOACHIMOGLU (G.). — Adsorption und Entgiftungsvermögen einiger Kohlen. *Biochem. Zschr.*, 134, 1922, s. 493.
324. JOACHIMOGLU (G.) und KLISSIUNIS (N.). — Weiteres über die antiseptische Wirkung einiger Quecksilberverbindungen. *Biochem. Zschr.*, 153, 1924, s. 136.
325. JOHNSON (B.) and LANE (F. W.). — The preparation of some alkyl derivatives of resorcinol and the relation of their structure to antiseptic properties. *Journ. amer. chem. Soc.*, 43, 1921, p. 348.
326. KANAO (R.). — Zur Desinfektionswirkung der Kresole. *Arch. für Hyg.*, 92, 1923, s. 139.
327. KAPLAN (A.). — Influence du nombre des microbes ensemencés sur la multiplication du bacille pyocyanique dans un milieu de culture liquide. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie)*, Paris, 1931.
328. KAUFMANN (H. P.). — Benzoessäure als Desinfektionsmittel. *Zschr. für angew. Chem.*, 32, 1919, s. 199.
329. KICKSON. — Über die Wirkung einiger sogenannten Konservierungsmittel auf Hackfleisch. *Zschr. unters. Nahrungs und Genussmit.*, 13, 1907, s. 534.
330. KINDLER (K.). — Physiologische Wirkung und Haftfestigkeit von Halogenen. *Arch. der Pharm.*, 266, 1928, s. 394.
331. KLARMANN (E.). — The preparation of 2-4-dihydroxydiphenylmethane and 2-4-dihydroxydiphenylethane. *Journ. amer. chem. Soc.*, 48, 1926, p. 791.
332. KLARMANN (E.). — Further studies on the introduction of alkyl and aryl groups into the nucleus of polyphenols. *Journ. amer. chem. Soc.*, 48, 1926, p. 2358.
333. KLARMANN (E.) and FIGDOR (W.). — The preparation of some alkyl and aryl derivatives of phloroglucinol. *Journ. amer. chem. Soc.*, 48, 1926, p. 803.

334. KLARMANN (E.), GATES (L. W.) and SHTERNOW (V. A.). — Halogenderivatives of monohydroxydiphenylmethane and their antibactericidal action. *Journ. amer. chem. Soc.*, 54, 1932, p. 3315.
335. KLARMANN (E.), GATES (L. W.) and SHTERNOW (V. A.). — The alkyl derivatives of halogen phenols and their bactericidal action. I : Chlorophenols. *Journ. amer. chem. Soc.*, 55, 1933, p. 2576.
336. KLARMANN (E.), GATES (L. W.), SHTERNOW (V. A.) and Cox (Ph. H. Jr.). — The alkyl derivatives of halogen phenols and their bactericidal action. II : Bromophenols. *Journ. amer. chem. Soc.*, 55, 1933, p. 4567.
337. KLARMANN (E.), GATES (L. W.) and SHTERNOW (V. A.). — Bactericidal properties of monoethers of dihydric phenols. I : the monoethers of resorcinol. *Journ. amer. chem. Soc.*, 53, 1931, p. 3397.
338. KLARMANN (E.), GATYAS (L. W.) and SHTERNOW (V. A.). — Bactericidal properties of monoethers of dihydric phenols. II : The monoethers of hydrochinon. *Journ. amer. chem. Soc.*, 54, 1932, p. 298.
339. KLARMANN (E.), GATES (L. W.) and SHTERNOW (V. L.). — Bactericidal properties of monoethers of dihydric phenols. III : The monoethers of pyrocatechinol. Comparative note on the three series of monoethers. *Journ. amer. chem. Soc.*, 54, 1932, p. 1204.
340. KLARMANN (E.), SHTERNOW (A.) and GATES (L. W.). — The bactericidal and fungicidal action of homologous halogenphenol derivatives and its « quasi-specific » character. I : Derivatives of parachlorophenol [Plaut research laborat. of Lehn and Fink, Inc., Blomfield (N. Y.)]. *Journ. labor. a clin. med.*, 19, 1934, p. 835.
341. KLARMANN (E.), SHTERNOW (A.) and GATES (L. W.). — The bactericidal and fungicidal action of homologous halogenphenol derivatives and its « quasi-specific » character. II : Derivatives of orthochlorophenol (with notes on chlorine free alkylphenol derivatives). *Journ. Labor. a clin. med.*, 20, 1934, p. 40.
342. KLARMANN (E.), SHTERNOW (A.) and Von WOVERN (J.). — The germicidal action of halogen derivatives of phenol and resorcinol and its impairment by organic matter. *Journ. of bact.*, 17, 1929, p. 423.
343. KLARMANN (E.) and Von WOVERN (J.). — The preparation of 2-4-dihydroxydiphenylmethane and ethane and their germicidal action. *Journ. amer. chem. Soc.*, 51, 1929, p. 605.

344. KLISIUNISS. — Über die antiseptische Wirkung des Kupferchlorids in Lösungsmitteln verschiedener Dielektrizitätskonstante. *Biochem. Zschr.*, 159, 1925, p. 107.
345. KLUGE (H.). — Über den Einfluss von Konservierungsmitteln auf die Wirkung von Fermenten. *Zschr. Unters. Lebensmitt.*, 66, 1933, s. 412.
346. KLUGE (H.). — Zu vorstehenden Ausführungen von Th. Sabalitschka, und H. Cremer. *Zschr. Unter. Lebensmitt.*, 67, 1934, s. 205.
347. KNEIDINGER. — *Zahnartzl. Rundschau*, 39, 1930, ss. 23 und 1008, d'après Eschenbrenner und Kohn, cf. 264.
348. KNORR. — *Münchn. med. Wochschr.*, 77, 1930, s. 14; *Biol. Heilk.*, 11, 1930, s. 272, d'après Th. SABALITSCHKA (476).
349. KOCH (R.) — Über Desinfektionsmitteln. *Mitt. a. d. kaiserl. Gesundheitsamtes*, 1, 1881, s. 234.
350. KOLBE (H.). — Über eine neue Darstellungsmethode und einige bemerkenswerte Eigenschaften der Salizylsäure. *Journ. für prakt. Chem.*, 10, 1874, s. 89.
351. KOLBE (H.). — Weitere Mitteilungen über die Wirkungen der Salizylsäure. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 11, 1875, s. 9 u. 213.
352. KOLBE (H.). — Abweisung nicht begründeter Urtheile von Halbchemikern über die antiseptischen Eigenschaften der Salizylsäure. *Journ. für prakt. Chem.*, 12, 1875, s. 161 u. 247.
353. KOLBE (H.). — Chemische Winke für praktische Verwendungen der Salizylsäure. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 13, 1876, s. 106.
354. KOLLE (W.), KRAUSS (R.) und UHLENHUTH (P.). — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (3 Auflage). 1931, G. Fischer, Iéna, Urban u. Schwarzenberg, Berlin u. Vienne.
355. KONRICH. — Zur Sterilisierfrage. *Apoth. Ztg.*, 46, 1931, s. 204 u. 240.
356. KONRICH. — Die Sterilisation, ein Teil oder Gesamtproblem? *Apoth. Ztg.*, 46, 1931, s. 660.
357. KONRICH. — Über die neuzeitlichen Grundlagen und praktische Ausführung der Sterilisation mit besonderer Berücksichtigung des Apothekenbetriebes. *Pharm. Ztg.*, 78, 1933, s. 176.
358. KORTHOFF (G.). — Kann Nipasolnatrium als Desinfektionsmittel in Gewebsflüssigkeiten benutzt werden? *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, I Abt., 130, 1933, s. 138.
359. KRAHE (E.). — Zur Theorie der Desinfektionswirkung des Sublimats. *Klin. Wochschr.*, 3, 1924, s. 70.

360. KRÖNIG (B.) und PAUL (T.). — Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. *Zschr. für Hyg.*, 25, 1897, s. 1 ; *Zschr. physikal Chem.*, 21, 1896, s. 414.
361. KUHN (Ph.) und PHILIPP (C.). — Über die Gewinnung von neuen Desinfektionsmitteln aus Thymol und Carvacrol. *Arch. für Hyg.*, 105, 1930, s.s. 15-18.
362. KURODA (T.). — Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungen des o-, m- und p-chlorophenols. *Arch. für exper. Pathol. u. Pharmak.* 112, 1926, s. 60.
363. KURODA (T.). — Über den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf die antiseptische Wirkung einiger Phenole und aromatischer Säuren. *Biochem. Zschr.*, 169, 1926, s. 281.
364. KÜSTER (E.) und BOJAKOWSKI (L.). — Untersuchungen über das quantitative Verhalten des Phenols bei der Einwirkung auf Bakterien. *Ztrbl. f. Bakt. u. s. w.*, I Abt. (Ref.), 54, 1912, s. 135*.
365. KÜSTER (E.) und ROTHBAUB. — Verlauf des Adsorptionsprozesses bei der Einwirkung des Phenols auf Bakterien. *Zschr. für Hyg.*, 73, 1912, s. 205.
366. KYOJI KASE. — Zur physiologischen Wirkung der Salizylsäurederivate; I. *Biochem. Zschr.*, 205, 1929, s. 21.
367. KYOJI KASE und KAKJIRO SEKI. — Zur physiologischen Wirkung der Salizylsäurederivate, II. *Biochem. Zschr.*, 205, 1929, s. 27.
368. LABES (R.) und JANSEN (E.). — Der Einfluss der Substitution auf die Kolloidchemische Wirkung von Essigsäure und Phenolderivaten und die Beziehungen zu desinfizierenden Eigenschaften. *Arch. für exper. Path. und Pharmak.*, 158, 1930, s. 1.
369. LABES (R.) und SCHUSTER (Th.). — Die Wirkung verschiedener substituierter Benzoessäuren und aromatischen Sulfosäuren auf das Flockungsoptimum des denaturierten Albumins. *Arch. für exp. Path. und Pharmak.*, 158, 1930, s. 29.
370. LAMBIN (S.). — Méthodes de mesure de l'activité antimicrobienne des substances chimiques. *Thèse Doct. ès Sc. nat.*, Paris, 1933.
371. *The Lancet*. — The standardisation of disinfectants. *The Lancet*. 177, 1909, pp. 1454, 1516 and 1612. — Critisme of our commimssioners Report. *The Lancet*, 1909, n° 4503, p. 1841.

372. LANGE (B.). — Vergleichende Untersuchungen über den Desinfektionswert von Kresolseifenlösungen und wässriger Kresolösungen. *Zschr. für Hyg.*, 94, 1921, s. 82.
373. LASSEUR (Ph.), DUPAIX (A.) et GROJEAN (M.). — Variations de quelques constantes physico-chimiques des suspensions bactériennes en fonction du pH. Influence de l'anion. *Lab. microbiol. Fac. Pharm. Nancy* (Estratto dal giornale di bacteriologia e immunologia, IX, 1922, n° 1 (Luglio X).
374. LASSEUR (Ph.) et SERRA (J.). — Action du pH sur le pouvoir antiseptique du violet cristallisé. *Trav. lab. microbiol. Fac. Pharm. Nancy*, IV, 1931, p. 133.
375. LASSEUR (Ph.), VERNIER (P.), DUPAIX (A.) et GEORGES (L.). — Influence de la variation expérimentale de la tension superficielle sur la vie des bactéries cultivées en milieu synthétique et en solution peptonée. *Arch. für Mikrobiol.*, 3, 1932, n° 5.
376. LAUBENHEIMER (H. K.). — Phenol und seine Derivate als Desinfektionsmittel. *Habilitationsschrift Gieszen, Berlin Wien* (Urban u. Schwarzenberg), 1909 (d'après *Zbl. für Bakt. u. s. w.* (Ref.), 44, s. 714).
377. LAUBENHEIMER (H. K.). — Allgemeine Bakteriologie und Sterilisationslehre. Iéna, 1915.
378. LAUBENHEIMER (H. K.). — Über Chlorothymol als Desinfektionsmittel. *Deutsch. med. Wochschr.*, 1928, s. 481.
379. LEGENDRE, BARRETTE et LEPAGE. — Traité pratique d'antisepsie appliquée à la thérapeutique et à l'hygiène, I, 1888, chap. 2, p. 33.
380. LEHMANN (K. B.). — Die neuesten Arbeiten über Bestimmung, Konservierungskraft und Zulässigkeit der Benzoesäure. *Chem. Ztg.*, 35, 1911, ss. 1297 u. 1314.
381. LEHMANN (K. B.). — Die Benzoesäure. Der gegenwärtige Stand unseres Wissens über die Wirkung und hygienische Zulässigkeit dieses Konservierungsmittels. *Chem. Ztg.*, 32, 1908, s. 949.
382. LEHMANN (K. B.). — Händedesinfektion mit Tribromonaphtol. *Beiträge z. Klin. Chirurgie*, 74, 1911, s. 220.
383. LEONARD (G.). — Limitations of phenol coefficients tests in determining germicidal activities. *Journ. of Infekt. Dis.*, 48, 1931, p. 358.
384. LEONARD (G.) and HEACOCK (E.). — Comparative results from the testing of various germicidal agents. *Amer. Journ. of Pharm.*, 100, 1928, s. 103.

385. LEONARD (V.). — Secretion of bactericidal urine and disinfection of the urinary tract following the oral administration of certain alkyl derivatives of resorcinol. *Journ. amer. med. Assoc.*, 83, 1924, p. 2005.
386. LEONARD (V.). — Significance of hexylresorcinol and its homolog in relation to the problem of internal antisepsis. *Science*, 62, 1925, p. 408.
387. LEONARD (V.) and FEIRER (W. A.). — The bacteriicidal activity of hexylresorcinol in glycerine — with special reference to the influence of surface tension in chemical disinfection. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 41, 1927, p. 21.
388. LEONARD (V.) and FROBISCHER (M.). — Clinical applications of hexylresorcinol in urology with observations on the significance of surface tension in urinary antisepsis. *Journ. urol.*, 12, 6, 1924, p. 585 ; 15, 1926, p. 1.
389. LEONARD (V.) and WOOD (A.). — Present status of hexylresorcinol as an internal urinary disinfectant. *Journ. amer. med. Assoc.*, 85, 1925, p. 1855.
390. LESCHKE (E.). — Die Sterilisierung von Injektionsflüssigkeiten und Arzneimitteln. *Munchn. med. Wochschr.*, 77, 1930, s. 2006.
391. LESURE. — Préparation et stérilisation des liquides injectables. Paris (1923), Le François, édit., 4^e édition.
392. LIESE (W.). — Bakteriologische und biologische Versuche mit Benzoessäure und Benzoessäurederivaten. *Arch. für Hyg. u. Bakt.*, 110, 1933, s. 355.
393. LLOYD (T. H.). — The bacteriological testing of disinfectants. *Journ. Soc. chem. ind.*, 25, 1906, s. 405.
394. LOCKEMANN (G.). — *Desinfektion*, 10, 1925, s. 48, d'après WEY-RAUCH: Zur vergleichende Prüfung von Desinfektionsmitteln. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, I Abt. (Orig.), 103, 1927, s. 123.
395. LOCKMANN (G.) und KUNZMANN (Th.). — Keimtötende Wirkung und chemische Konstitution der isomeren Xylenole und ihrer Monohalogenderivate. *Zschr. für angew. Chem.*, 46, 1933, s. 296.
396. LOCKEMANN (G.) und ULRICH (W.). — Über Seethöl und über die desinfizierende Wirkung von Estern. *Desinfektion*, 9, 1924, s. 103.
397. LOCKEMANN (G.) und ULRICH (W.). — Über die baktericide Wirkung von Estern. *Desinfektion*, 10, 1925, ss. 102, 106, 118, 121.
398. LOCKEMANN (G.) und ULRICH (W.). — Über die Adsorptionsvorgänge bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln, I. *Desinfektion*, 8, 1923, s. 86.

399. LOCKEMANN (G.) und ULRICH (W.). — Adsorption und Desinfektion. III : Versuche mit Phenol und Phenolderivaten. *Zschr. für Hyg.*, 110, 1929, s. 68.
400. LOCKEMANN (G.) und ULRICH (W.). — Adsorption und Desinfektion. IV : Wertbestimmung von Phenolderivaten mittels verschiedenen Verfahren. *Zschr. für Hyg.*, 113, 1932, s. 675.
401. LOEWE (O.). — Ein natürliches System der Giftwirkungen. *Apoth. Ztg.*, 8, 1893, ss. 408 u. 415.
402. LÖFFLER (F.). — *Deutsch. med. Wochschr.*, 17, 1891, s. 353.
403. LÜBBERT. — *Biologische Spaltpilzuntersuchung*, Würzburg, 1886, d'après Th. SABALITSCHKA und TIETZ, cf. 491.
404. LÜHRIG und SARTORI. — Gärungshemmungen zuckerhaltiger Lösungen durch Konservierungsmittel. *Pharm. Zentralhalle*, 29, 1908, s. 934.
405. MACHT (D. I.). — A pharmacological examination of benzaldehyde and mandelic acid. *Arch. int. pharm. ther.*, 27, 1923, p. 163.
406. MACHT (D. I.). — On the anthelmintic action of benzyl alcohol and benzyloesters. *Journ. of Pharm.*, 14, 1920, p. 323.
407. MACHT (D. I.). — A pharmacological and therapeutic study of some benzyl esters. *Journ. of Pharm.*, 11, 1918, p. 419.
408. MACHT (D. I.) and DUNNING (F.). — A pharmacologic and therapeutic study of bromsalizol, or monobromsaligenin. *Journ. lab. a clin. urol.*, 20, 1934, p. 127 ; *Proc. Soc. exp. biol. med.*, 31, 1934, p. 880.
409. MACHT (D. I.) and HILL (J. H.). — Concerning antiseptic action of some benzyl compounds. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 34, 1923, p. 154.
410. MACHT (D. I.) and SATANI (Y.). — A study of the antiseptic action of certain local anesthetics. I : Antiseptic action of local anesthetics against Staphylococcus and Bacillus coli. *Journ. of urol.*, 4, 1920, p. 347.
411. MASSEY. — A comparison between the germicidal power of a disinfectant in solution and in the emulsified state. *Journ. of hyg.*, 9, 1909, p. 341.
412. MATTHEWS (A.). — Partial sterilization of soil by antiseptics. *Journ. of agricult. Sc.*, 14, 1924, p. 1.
413. MAZETTI (G.). — Il potere bactericida dell orto-, meta- e para-nitrophenolo. *Policlinico*, 48, 1928, p. 2405.
414. MEYER (E. v.) und KOLBE (H.). — Versuche über die gährungshemmende Wirkung der Salizylsäure und anderen aromatischer Säuren. *Journ. für prakt. Chem.*, 12, 1875, p. 133.

415. MEYER (E. v.) und KOLBE (H.). — Über die antiseptischen Wirkungen der Salizylsäure und Benzoessäure in Bierwürze und Harn. *Journ. für prakt. Chem.*, 12, 1875, s. 178.
416. MEYER (K. H.). — Die Chemie der Micelle und ihre Anwendung auf biochemische und biologische Probleme. *Biochem. Zschr.*, 208, 1929, s. 1.
417. MINERVINI (R.). — Über die baktericide Wirkung des Alkohols. *Zschr. für Hyg.*, 29, 1898, s. 117.
418. MODERSPRACH (E.) und BERTHESEN (K. C.). — Über das Vorkommen von Mikroorganismen in flüssigen Arzneimitteln. *Ber. Ungar. Pharm. Ges.*, 1929, s. 301, d'après *Schweiz. Apoth. Ztg.*, 68, 1930, s. 123 ; *Ztrbl. für Pharm.*, 25, 1929, s. 275.
419. MOORE (Q.). — Über die Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln nach Rideal und Walker. *Journ. soc. chem. ind.*, 45, 1926, p. 472.
420. MOREL (A.), ROCHAIX (A.) et DUMAS (Y.). — Sur les pouvoirs antiseptiques et infertilisants du benzène et de quelques-uns de ses dérivés halogénés. *C. R. Soc. de Biol.*, 117, 1934, p. 445.
421. MOREL (A.), ROCHAIX (A.) et PERROT (L.). — Sur les pouvoirs antiseptiques de quelques phénols et éthers-oxydes de phénols à fonction alcylique, propénylique ou aldéhydique. *C. R. Soc. de Biol.*, 114, 1933, p. 1118.
422. MOREL (A.), ROCHAIX (A.) et SEVELINGE (L.). — Action antiseptique et action antifertilisante de quelques essences de menthe et de leurs principaux constituants. *Parfumerie moderne*, 21, 1928, p. 163.
423. MORGAN (G. T.) and COOPER (E. A.). — The influence of the chemical constitution of certain organic hydroxyl and aminic derivatives on their germicidal value. *Sth. Int. cong. applied chem.*, 18, 1912, p. 243.
424. MOUREU (Ch.) et DUFRAISSE (Ch.). — Sur l'autoxydation : les antioxygènes. *C. R. Ac. des Sc.*, 174, 1922, p. 258.
425. MULLER (J.). — Über die antiseptische Eigenschaft der Salicylsäure gegenüber der der Carbonsäure. *Journ. für prakt. Chem.*, 10, 1874, p. 444.
426. MÜLLER (P.). — Über den Bakteriengehalt des in Apotheken erhältlichen destillierten Wassers. *Münchn. med. Wochenschr.*, 58, 1911, s. 2739.
427. MUSSILL (J.) und SMEJKAL (O.). — Die Verwendbarkeit von p-oxybenzoesäureestern zur Konservierung von Milch. *Zschr. Fleisch. Milchhyg.*, 42, 1932, ss. 117-201.
428. NATHANSON (A.). — Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. Leipzig, 1910.

429. NEISZER (N.) und TILLMANN (F.). — Über die Verwendung von Mikrobin. *Konservenind.*, 13, 1926, ss. 319, 328, 338, 361.
430. NEKRASSOW (B.). — Adsorptionserscheinungen in Lösungen. XVI: Über die Umkehrung der Traubeschen Adsorptionsregel. *Zschr. für physika. Chem.*, 136, 1928, s. 379.
431. NEUBAUER (C.). — Gärungshemmende Wirkung der Salizylsäure. *Journ. für prakt. Chem.* (2), 11, 1875, s. 1 u. 354; 12, 1875, s. 331.
432. NEUFELD (F.) und KARLBAUM (L.). — Beiträge zu einigen Desinfektionsfragen. *Zschr. für Hyg.*, 91, 1920, s. 29.
433. NICOLLE et JOUAN. — Essai de la valeur antiseptique d'un corps. *Cours Inst. Pasteur*, Legroux, 1923.
434. NORGAARD. — Über das Wachstum von Schimmelpilzen in Morphinlösung. *Schweiz. Apoth. Ztg.*, 60, 1922, s. 453.
435. NOVY (d'après H. BRAUN). — Zur Assimilation und Dissimilation bei Bakterien. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, I Abt. (Orig.), 122, 1931, s. 5.
436. PAUL (Th.). — Entwurf zur Einheitlichen Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmitteln. Berlin, 1901.
437. PAUL (Th.), BIRSTEIN (G.) und REUSS (A.). — Beiträge zur Kinetik der Giftwirkung von gelösten Stoffen. *Biochem. Zschr.*, 29, 1910, ss. 202 u. 239.
438. PAUL (Th.) und KRÖNIG (B.). — Die gesetzmässigen Beziehungen zwischen Lösungszustand und Wirkungswert der Desinfektionsmitteln. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, 21, 1897, s. 710.
439. PERRY MORGAN (d'après DAKIN). — *Brit. med. journ.*, 13 may 1916.
440. PERROT (L.). — Contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien de quelques dérivés aromatiques à chaîne latérale allylée, propénylée ou à fonction aldéhydique. *Thèse Doct. univ. (Pharmacie)*, Lyon, 1933.
441. POETSCHKE (P.). — Germicidal efficiency of dentalcements. *Journ. ind. eng. chem.*, 7, 1915, p. 195.
442. PORTIER (P.). — Résistance aux agents chimiques de certaines races de *Bacillus subtilis* provenant des insectes. *C. R. Ac. des Sc.*, 161, 1915, p. 397.
443. PORTIER (P.) et KLING. — Sur la valeur antiseptique des peintures aux dérivés phénoliques chlorés ou non chlorés. *Bull. Acad. de méd.*, 106, 1931, p. 305 ; *Peintures, pigments, vernis*, 9, 1932, p. 14.
444. QUFRE (H.). — Inhibition de la fermentation acétique par divers dérivés halogénés. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1388.

145. RADOEFF (A.). — Inhibition de la fermentation alcoolique des végétaux supérieurs par l'acide monobromacétique et ses esters. *C. R. Soc. de Biol.*, 112, 1933, p. 1391.
146. RAPP (N. F.). — Der Desinfektionswert der drei isomeren Kresole. *Apoth. Ztg.*, 22, 1907, s. 643.
147. RAPP (N. F.). — Die baktericide Wikrsamkeit von Chlorkresol und Chlorxy'enol. *Journ. soc. chem. ind.*, in *Chem. Ztrbl.*, 1933, 11, s. 1047.
148. RAPP (N. F.). — Wissenschaftliche Pharmazie in Rezeptur und Defektur. *Pharm. Ztg.*, 74, 1929, s. 467 u. 678.
149. RATCLIFFE (H. L.). — The oral administration of certain alkyl-resorcinols and their effects in the intestinal protozoa and bacteria of rats and upon intestinal protozoa in chicks. *Amer. Journ. of hy.*, 10, 1929, p. 643.
150. READ (R. R.) and MILLER (E.). — Some substituted phenols and germicidal activity. *Journ. Amer. Chem. soc.*, 54, 1932, p. 1195.
151. REDDISH (G. F.). — Examination of disinfectants. *Amer. J. Pub. Health*, 15, 1925, p. 534 ; 16, 1926, p. 283 ; 17, 1927, p. 320.
152. RÉGNIER (J.) et KAPLAN (A.). — Contribution à l'étude numérique de la multiplication microbienne. Influence du nombre des microbes ensemencés sur la vitesse de leur multiplication. *C. R. Ac. des Sc.*, 194, 1932, p. 323.
153. REICHEL (H.). — Zur Theorie der Desinfektion. Der Desinfektionswert des Phenols. *Biochem. Zschr.*, 22, 1909, ss. 149-231.
154. REICHEL (H.). — Desinfektions- und Sterilisationslehre. I : Allgemeiner und physikalischer Teil, in *Kolle, Krauss und Uhlenhuth*, 1931, Bd III, cap. XIV, s. 385.
155. REICHENBACH (H.). — Die theoretischen Grundlagen der Normalisierung der Desinfektionsmittel. *Desinfektion*, 6, 1921, s. 241.
156. RETTGER (L. F.), VALLEY (G.) and PLASTRIDGE (W. N.). — Studies on the disinfectant properties of certain alkylphenols, I : n-butylresorcin. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, I Abt., 110 (Orig.), 1929, s. 80.
157. RETTGER (L. F.), VALLEY (G.) and PLASTRIDGE (W. N.). — Studies on the disinfectant properties of certain alkyl phenols, II: n-butylphenols. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, I Abt. (Orig.), 111, 1929, s. 287.
158. RIDEAL (S.). — Lettre à l'éditeur du journal *The Lancet*, 1909, n° 4503, p. 1849.

459. RIDEAL (S.), RIDEAL (E. K.) and SCIVER (A.). — Investigation in to germicidal powers and capillary activities of certain essentiel oils. *Perfumery essent. oil record*, 19, 1928, p. 285.
460. RIDEAL (S.) and WALKER (J. T. A.). — The standardisation of disinfectants. *Journ. of the Sanitary inst.*, 24, 1903, p. 424.
461. RIDEALS (S.) and WALKER (J. T. A.). — Approved technique of the Rideal Walker test, London, 1921, Lewis and C°.
462. ROBINET (E.) et PELLET (H.). — Etude sur les propriétés antiseptiques de l'acide salicylique. *C. R. Ac. des Sc.*, 194, 1882, p. 1324.
463. ROCHAIX (A.). — Lois et théorie de l'action germicide des substances chimiques. *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, 34, 1912, p. 266.
464. ROCHAIX (A.) et PINET (L.). — Sur l'action microbicide de quelques dérivés halogénés de l'acide salicylique. *Bull. des Sc. pharmacol.*, 34, 1927, p. 486.
465. RONA (P.) und MICHAELIS (L.). — Über die Adsorption der H und OH Ionen und der Schwermetallionen durch Kohle. *Biochem. Zschr.*, 97, 1919, s. 85.
466. ROSENBLATT (M.) et ROZENBLAND (M.). — Sur l'influence paralysante exercée par certains acides sur la fermentation alcoolique. *C. R. Ac. des Sc.*, 149, 1909, p. 309.
467. ROST, FRANZ und WETZEL. — Zur Kenntnis der Wirkungen der Benzoesäure und ihrer Natriumsalzes auf den tierischen Organismus. *Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte*, 45, 1913, s. 425.
468. SABALITSCHKA (Th.). — Chemische Konstitution und Konservierungsvermögen. *Chem. Ztg.*, 48, 1924, s. 703.
469. SABALITSCHKA (Th.). — Chemische Konstitution und Konservierungsvermögen. *Pharm. Monatsh.*, 5, 1924, s. 235.
470. SABALITSCHKA (Th.). — Über das Schimmeln pharmazeutischer Sirupe und seine wirksame Verhütung. *Pharm. Zentralhalle*, 68, 1927, s. 17.
471. SABALITSCHKA (Th.). — Die konservierende und desinfizierende Wirkung carbozyklischer Säuren, ihrer Salze und Ester. *Schw. Apoth. Ztg.*, 65, 1927, s. 169.
472. SABALITSCHKA (Th.). — Studien über die Beziehung zwischen Wirkung auf Mikroorganismen und chemischer Konstitution von p-oxybenzoesäurederivaten. *Apoth. Zt.*, 43, 1928, s. 670.
473. SABALITSCHKA (Th.). — Chemische Konstitution und Wirkung auf Mikroorganismen. *Pharm. Acta Helv.*, 3, 1928, s. 103 ; *Zschr. für angew. Chem.*, 41, 1928, s. 621.

474. SABALITSCHKA (Th.). — Konservierungsvermögen chemischer Nachweis und Pharmakologie der p-oxybenzoesäureester. *Zschr. für angew. Chem.*, 42, 1929, s. 936.
475. SABALITSCHKA (Th.). — Beziehungen physikalischer Eigenschaften chemischer Stoffe zu ihrer Wirkung auf Mikroorganismen. *Arch. der Pharm.*, 267, 1929, s. 272.
476. SABALITSCHKA (Th.). — Verwendung der p-oxybenzoesäureester zur Sterilerhaltung, Sterilisation und Desinfektion. *Arch. der Pharm.*, 268, 1930, s. 653.
477. SABALITSCHKA (Th.). — Die Unschädlichkeit des neuen Konservierungsmittel p-oxybenzoesäureäthylester und-propylester (Nipakombin) für die Gesundheit. *Deutsch. Nahrungsmittel Rundschau*, 1930, s. 145.
478. SABALITSCHKA (Th.). — Studien zur Auffindung neuer Konservierungsmittel und Konservierungsprodukte. *Pharm. Ztg.*, 75, 1930, ss. 454 u. 466.
479. SABALITSCHKA (Th.). — *Ztrbl. für Pharm.*, 1931, prakt. H., s. 174.
480. SABALITSCHKA (Th.). — Bederf van pharmatische preparaten door microorganismen en het verhinderen daarvan. *Pharm. Weekblad*, 68, 1931, s. 947.
481. SABALITSCHKA (Th.). — Die konservierende Wirkung einiger p-oxybenzoesäureester. *Pharm. Monatsh.*, 13, 1932, s. 225.
482. SABALITSCHKA (Th.). — Bemerkung zur Mitteilung: die Verwendbarkeit von p-oxybenzoesäureestern zur Konservierung von Milch. *Zschr. Fleisch. Milchhyg.*, 42, 1932, s. 201.
483. SABALITSCHKA (Th.). — Die Brücke von der chemischen Konstitution zum biologischen Effekt, insbesondere zur antimikroben Wirkung. *Arzt. Apoth. Krankenhaus*, 3, sonder Nr, 1933, s. 141.
484. SABALITSCHKA (Th.). — Über den Einflusz von Konservierungsmitteln auf die Wirkung von Fermenten. *Zschr. Unters. Lebensmitt.*, 67, 1934, s. 203.
485. SABALITSCHKA (Th.) und BÖHM (E.). — Über die Konservierung pflanzlicher Gallerten, Schleime und Zuckersäften. *Apoth. Ztg.*, 41, 1926, s. 635; *Pharm. Ztg.*, 71, 1926, s. 496; *Chem. Ztg.*, 51, 1927, s. 301.
486. SABALITSCHKA (Th.) und BÖHM (E.). — Über die Sterilisation und Sterilhaltung von Normalserum mit Phenol, Trikresol und Nipasol. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, I Abt. (Orig.), 123, 1932, s. 351.

487. SABALITSCHKA (Th.), DIETRICH (K. R.) und BÖHM (E.). — Einfluss der Veresterung carbozyklischer Säuren auf deren entwicklungshemmende Wirkung gegenüber Mikroorganismen. *Pharm. Ztg.*, 71, 1926, s. 834.
488. SABALITSCHKA (Th.) und FINGER (F.). — Umkehrung der Traubeschen Regel bei der Adsorption homologer Reihen an Zuckerkohle. *Dissertation Berlin*, 1928 ; *Pharm. Ztg.*, 74, 1929, s. 382.
489. SABALITSCHKA (Th.) und JEGLINSKI (H.). — Synthetische Studien über die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und antimikrobischer Wirkung. X: Glycerin- und Dihalogenhhydrinester der Benzoesäure und einfacher oder substituierte Benzoesäuren. *Arch. der Pharm.*, 269, 1931, s. 228.
490. SABALITSCHKA (Th.) und SCHWEITZER (F. L.). — Synthetische Studien über die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung auf Mikroorganismen. VIII: Glucoside der einfachen und chlorierten p-oxybenzoesäure und ihrer Ester. *Arch. der Pharm.*, 267, 1929, s. 675.
491. SABALITSCHKA (Th.) und TIETZ. — Synthetische Studien über die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Wirkung auf Mikroorganismen. XI: Zwei und dreifach hydroxylierte und oxalkylierte benzoesäuren und deren Estern. *Arch. der Pharm.*, 269, 1931, s. 545.
492. SALKOWSKI (E.). — Über die Wirkung der Antiseptica auf Toxine. *Biochem. Zschr.*, 50, 1913, s. 483.
493. SALKOWSKI (E.). — Über die antiseptische Wirkung von Salicylaldehyd und Benzoesäureanhydrid. *Virchows Archiv.*, 157, 1901, s. 416.
494. SALTET (R. H.) et ZEEHANDELAAR (J.). — Over de werking van formaldehyde en salicylzaur op de vorning van de bottilinus-toxine. *Pharm. Weekblad*, 48, 1911, s. 1337.
495. SAMTER (E.). — Desinfizierende Eigenschaften der Salizylsäure, des Thymols und einiger Antiseptica. *Inaug. Diss. Berlin*, 1887 ; *Ther. Monatsh.*, 1, 1887, s. 348.
496. SCHAEER (Ed.). — Über die Veränderung der Eigenschaften der Fermente durch Salizylsäure und einige andere antiseptische Mittel. *Journ. für prakt. Chem.*, 12, 1875, s. 123.
497. SCHAFFER (J. M.) and TILLEY (F. W.). — Further investigations of the relation between the chemical Konstitution and the germicidal activity of alcohols and phenols. *Journ. of Bact.*, 14, 1927, p. 259.

498. SCHAFFER (J. M.) and TILLEY (F. W.). — Germicidal efficiency of soaps and of mixtures of soaps with sodium hydroxide or with phenols. *Journ. of agricult. Research.*, 41, 1930, p. 737.
499. SCHEURLÉN. — Die Bedeutung des Molekularzustandes der wassergelösten Desinfektionsmittel für ihren Wirkungswert. *Arch. für exp. Pathol. und Pharmak.*, 37, 1895-96, s. 74.
500. SCHEURLÉN und SPIRO. — Die gesetzmässigen Beziehungen zwischen Lösungszustand und Wirkungswert der Desinfektionsmittel. *Münchn. Med. Wochschr.*, 44, 1897, s. 81.
501. SCHNEIDER (H.). — Vergleichende Desinfektionsversuche zwischen Lysol und der neuen Kresolseife der Preussischen Ministerialerlasser vom 19. Okt. 1907. *Zschr. für Medizinalbeamte*, 1908, Nr. 2, Jan., d'après *Chem. Ztrbl.*, 1908, 1, s. 662.
502. SCHNEIDER (H.). — Ein Beitrag zur Kenntnis der Phenole in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen von chemischen und bakteriologischen Standpunkt. *Zschr. für Hyg.*, 53, 1906, s. 116.
503. SCHNEIDER (H.). — Desinfektionsmitteln. *Ullmann Enzyklopedie der technischen Chemie*, 3, 1916, s. 683; *Deutsch. Med. Wochschr.*, 44, 1909, s. 150.
504. SCHÜBL (K.). — Chemotherapeutic experiment with Chaulmogra and allied preparations. IV: A survey of certain organic compounds as to their growth inhibiting activity toward acid fast bacilli « in vitro ». *Philippine Journ. Science*, 25, 1924, p. 123.
505. SCHRAUTH (W.). — Die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Desinfektionswirkung. *Deutsch. Parfümerie Ztg.*, 2, 1916, ss. 185-201-215.
506. SCHÜBEL (W.) und MANGER (J.). — Ein Beitrag zur Pharmakologie einiger p-oxybenzoesäureester. Das Schicksal im Organismus und die Toxizität. *Arch. für exp. Pathol. und Pharmak.*, 146, 1929, s. 207.
507. SCHÜBEL (K.) und MANGER (J.). — Zur Toxikologie der p-chlorbenzoesäure und ihres Natriumsalzes « Mikrobilin ». *Arch. für exp. Pathol. und Pharmak.*, 146, 1929, s. 223.
508. SCHÜLLER (L.). — Einige Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung. *Arch. für exp. Pathol. und Pharm.*, 147, 1930, s. 64.

509. SCHUBERT (K.) und RICHTER (K.). — Einiges über den Chemismus der bakteriziden Wirkung von Phenolen. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, 11 Abt., 66, 1926, s. 11.
510. SCHUMACHER (J.). — Zur Chemie der Desinfektion und über Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und pharmakologischer Wirkung zugleich ein Beitrag zur Vitalfärbung. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w. n.*, 1 Abt. (Orig.), 98, 1926, s. 67.
511. SCHWENKE. — Die keimfreie Filtration im Apothekenbetriebe. *Pharm. Ztg.*, 76, 1931, s. 439 et 682.
512. SCOTT and HILL. — Action of mercurochrome and tincture of iodine in skin disinfection. *Journ. of urol.*, 14, 1925, p. 135. D'après BIRKANY: Metaphene. I: A comparative study of commonly used disinfectants and antiseptics. II: Histologie changes produced by the intraveinuous administration of metaphene in rabbits. *Journ. of Amer. Med. Assoc.*, 95, 1930, p. 917.
513. SERGER. — Ameisensäure und benzoessäure als Konservierungsmittel. *Pharm. Zentralhalle*, 52, 1911, s. 1109.
514. SERGER. — *Konservenind.*, 1929, 16, 94, d'après ESCHENBRENNER und KOHN, cf. 264.
515. SOMERVILLE and WALKER. — The standardisation of disinfectants in the presence of organic matter. *Sanitary records*, 38, 1907, p. 485.
516. SPIRO (K.) und BURNS (H.). — Zur Theorie der Desinfektion. *Arch. für exp. Pathol. und Pharmak.*, 41, 1898, s. 354.
517. STADLER (H.). — Über die entwicklungshemmende Wirkung einiger organischer Stoffe in Lösung oder in Dampfform. *Arch. für Hyg.*, 73, 1911, s. 195.
518. STEENHAUER (A. J.). — Het desinfecteerend vermogen van ortho-, meta- und parakresol en van kwickoxycyanid. *Pharm. Weekblad*, 53, 1916, s. 680.
519. STICH (C.). — Zur Sterilisation in der 6 Ausgabe des deutschen Arzneibuches. *Apoth. Ztg.*, 41, 1926, s. 1469.
520. STOYE (W.). — Über die Einwirkung von Fettsäureestern auf Bakterien. *Zschr. für Hyg.*, 103, 1924, s. 97.
521. SWARTZ (E. O.). — A study of the antiseptic action of benzylalcohol and other local anesthetics against the gonococcus. *Journ. of urol.*, 4, 1920, s. 355.
522. TAGLIAVINI (A.). — Sterilizzazione insufficiente. *Giorn. Farmac. Chim.*, 76, 1927, p. 130.
523. TALHIMER and PALMER. — A comparison of the bactericidal action of quinone with that of some of the commoner disinfectants. *Journ. cf. inf. Dis.*, 9, 1911, p. 181.

524. TIFFENEAU (M.). — Désinfectants; Extrait du « Cours d'hygiène professée à l'Institut d'Hygiène de la Faculté de Médecine de Paris », Masson, éditeur, Paris, 1927.
525. TIFFENEAU (M.). — La pharmacologie en 1930. *Paris Médical*, 21 juin 1930, pp. 555-567-582.
526. TILLEY (T. W.). — Investigations of the germicidal value of some of the chlorine disinfectants. *Journ. agricult. res.*, 20, 1920, p. 85, in *B. I. P.*, 1921, p. 424.
527. TILLEY (F. W.) and SCHAFER (J. M.). — Relation between the chemical constitution and germicidal activity of the monohydric alcohols and phenols. *Journ. of bakt.*, 12, 1926, p. 303.
528. TILLEY (F. W.) and SCHAFER (J. M.). — Germicidal efficiency of mixture of phenols with sodium hydroxide, with glycerol and with ethyl alcohol. *Journ. of agricult. Res.*, 32, 1931, p. 611.
529. TOMITA (T.). — Adsorption und Osmose in Gelen. *Biochem. Zschr.*, 153, 1924, s. 335.
530. TRAUBE (J.). — Die physikalische Theorie der Arzneimittel und Giftwirkung. *Biochem. Zschr.*, 98, 1919, s. 187.
531. TRAUBE (J.). — Die Oberflächenaktivität der Homologen des Hydrocupreins und deren Toxine. Beitrag zur Theorie der Desinfektion. *Biochem. Zschr.*, 98, 1919, s. 197.
532. TRAUBE (J.). — Lipoidtheorie und Oberflächenaktivitätstheorie. *Biochem. Zschr.*, 153, 1924, s. 358.
533. TRAUBE (J.) und DANNENBERG (F.). — Über Permeabilitätsproblem. *Biochem. Zschr.*, 198, 1928, s. 209.
534. TRAUBE (J.) und SOMOGYI (R.). — Zur Theorie der Desinfektion. *Biochem. Zschr.*, 120, 1921, s. 90.
535. TRAUBE (J.) und YUMIKARA (S.). — Lipoidtheorie und Oberflächenaktivitätstheorie, II. *Biochem. Zschr.*, 157, 1925, s. 383.
536. TRAUBE (J.) und WHANG SIAR HONG. — Über Reibungskonstante und Wandschicht. I : *Zschr. für physikal. Chem.*, Abt. A, 138, 1928, s. 102 ; II : *id.*, Abt. A, 145, 1929, s. 257. *Biochem. Zschr.*, 203, 1929, s. 363.
537. UHLENHUTH (P.) und HAILER (E.). — Die Desinfektion tuberkulösen Auswurfs durch chemische Mittel. III : Die Wirkungsweise alkalischer Phenolpräparate : Die Krebssollösungen. *Arch. für Hyg.*, 92, 1923, s. 35.
538. UHLENHUTH (P.) und HAILER (E.). — Die Einwirkung von Desinfektionsmittel auf Reinkulturen von Tuberkelbakterien. *Zschr. für Hyg.*, 98, 1922, s. 515.

539. UHLENHUTH (P.) und RÉMY (E.). — Neuere Untersuchungen über die keimtötende Wirkung der drei isomeren Kresole sowie von Di- und Triresolgemischen in Form a kalischer Seifenlösungen bei tüberkulösen Sputum. *Arch. Hyg. Bakt.*, **111**, 1933, s. 127.
540. VALLIN. — Traité des désinfectants, Masson, éditeur, Paris, 1882.
541. VELLUZ (L.). — Influence de la structure chimique sur les propriétés cryptotoxiques des acides phénols. *C. R. Soc. de Biol.*, **107**, 1931, p. 583.
542. VELLUZ (L.). — Action de l'acide actylsalicylique sur la toxine tétanique. *C. R. Soc. de Biol.*, **109**, 1932, p. 178.
543. VELLUZ (L.). — Nouvelles recherches sur les agents cryptotoxiques. *C. R. Soc. de Biol.*, **109**, 1932, p. 269.
544. VELLUZ (L.). — Les cryptotoxines (Revue). *Journ. de Pharm. et de Chim.* (8), **15**, 1932, p. 400.
545. VELLUZ (L.). — Relations entre la constitution chimique et les propriétés antitoxiques de quelques molécules organiques. *Bull. de la Soc. de Chim. Biol.*, **16**, 1935, p. 838.
546. VELTHORST (H.). — Die Konservierende Wirkung einiger p-oxybenzoesäureester. *Pharm. Monatsh.*, **13**, 1932, s. 199.
547. VERMAST (P. G. F.). — Beitrag zur Theorie der Desinfektion im Lichte der Meyer-Overtonsche Lipoidtheorie. *Biochem. Zschr.*, **125**, 1921, s. 106.
548. VIEH JENSEN und HOLGER CRUER. — Untersuchungen über die Anwendbarkeit von einigen Stoffen zur Konservierung von Medikamenten. *Dansk. Tidskr. Farmac.*, **7**, 183, 1933, s. 202, d'après *Chem. Ztrbl.*, 1934, **1**, s. 730.
549. VINCENT (H.). — Sur la prophylaxie de l'infection des plaies de guerre. Etude comparée des divers agents antiseptiques. *C. R. Ac. des Sc.*, 1917, p. 153.
550. VINCENT (H.). — Sur quelques substances colloïdales à propriétés cryptotoxiques. *C. R. Ac. des Sc.*, **186**, 1928, p. 1175.
551. VINCENT (H.). — Recherches sur les propriétés antitoxiques et antimicrobiennes du salicylate de soude. *Bull. Acad. de Méd.* (3), **100**, 1928, p. 782.
552. VINCENT (H.). — Action antitoxique du salicylate de soude et de quelques dérivés substitués sur la toxine tétanique. *C. R. Soc. de Biol.*, **103**, 1930, p. 747.
553. VINCENT (H.). — Nouvelles recherches sur les cryptotoxines. Les phénomènes de sursaturation des toxines par l'ion salicylique. *C. R. Ac. des Sc.*, **193**, 1931, p. 620.

554. VINCENT (H.) et VELLUZ (L.). — Les propriétés cryptotoxiques des acides oxybenzoïques halogénés. *C. R. Ac. des Sc.*, 192, 1931, p. 648.
555. VINCENT (H.) et VELLUZ (L.). — Sur les propriétés immunigènes de la cryptotoxine diiodosalicylique. *C. R. Ac. des Sc.*, 193, 1931, p. 969.
556. VIOLE. — Du pouvoir bactéricide du ricinoléate de soude. *C. R. Ac. des Sc.*, 197, 1933, p. 714.
557. WALKER (J. E.). — The germicidal properties of chemically pure soaps. *Journ. of infect. dis.*, 35, 1924, p. 557.
558. WALKER (J. E.). — The germicidal properties of soaps. *Journ. of infect. dis.*, 38, 1926, p. 127.
559. WALKER (J. E.). — Die keimtötende und therapeutisch Anwendungen von Seifen. *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 97, 1931, p. 19.
560. WATERMANN (H.). — Über einige Faktoren, welche die Entwicklung von *Penicillium glaucum* beeinflussen. Beitrag zur Kenntnis der Antiseptica und der Narkose. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, II Abt., 42, 1915, s. 639.
561. WATERMAN (H. I.) and KNIPER (P.). — The antiseptic action of benzoic acid, salicylic acid, cinnamic acid and their salts. *Rec. trav. chim. des Pays-Bas* (4), 43, 1924, p. 323.
562. WEHMER (C.). — Einige vergleichende Versuche über das antiseptische Verhalten der Benzoesäure und ihre drei isomeren Oxysäuren. *Chem. Ztg.*, 21, 1897, s. 73.
563. WELWART. — Antiseptica in Zahnpasten. *Deutsch. Parfum. Ztg.*, 18, 1932, s. 406.
564. WIDNER (A.), KALBERER (O. E.) und BRAUN (F.). — Über die Konservierung von Obst und Traubensäften mit chemischen Stoffen. *Landwirtschaftl. Jahresb. Schweiz.*, 44, 1930, s. 521.
565. WILL (H.). — Einwirkung von Estern auf Hefen und andere Sprosspilze. *Ztrbl. für Bakt. u. s. w.*, II Abt., 38, 1913, s. 539.
566. WIRGIN (G.). — Zur Wirkung des Aethylalkohols auf Mikroorganismen. *Zschr. für Hyg.*, 40, 1902, s. 307; Vergleichende Untersuchung über die Keimtötenden und die entwicklungshemmenden Wirkungen von Alkoholen der Methyl-, Aethyl-, Propyl-, Butyl-, und Amylreihen, *id.*, 44, 1904, s. 149.
567. WIRTH (E.). — Das Trübwerden von Bromwasser. *Münchn. Med. Wochschr.*, 72, 1925, s. 2019.
568. WISCHO (F.) und ZECHNER (L.). — Bemerkungen zur Prüfung des Syrupus simplex mit Fehling'scher Lösung. *Pharm. Monatsch.*, 9, 1928, s. 193.

569. WOLFFHUGEL und V. KNORRE. — Zu der verschiedenen Wirksamkeit von Carbolöl und Carbolwasser. *Mitt. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamtes*, 1, 1881, s. 352.
570. WOODHEAD and PONDER. — *The Lancet*, 2, 1909, p. 1516.
571. WOODWARD, GLENN (J.), LYLE (B.), KINGERY and ROGER (J. W.). — The fungicidal power of phenol derivatives. I: Effect of introducing alkyl groups and halogens. *Journ. lab. a clin. med.*, 19, 1934, p. 1216.
572. WORONZOFF, WINOGRADOFF und KOLESNIKOFF. — Über den Einfluss der Desinfektionsmittel auf das Kontagium des Milzbrandes. *Russkaia medicina*, 1886, Nr 3 u. 32, d'après *Chem. Ztrbl.*, 18, 1887, s. 723.
573. WRIGHT (A. E.). — *The Lancet*, London, 2, 1902, p. 11.
574. WRIGHT. — Report on the com. on standard methods of examining disinfectants. *Amer. J. Pub. Health.*, 8, 1918, p. 506 ; *Journ. of Bakt.*, 2, 1917, p. 315.
575. YABE. — College of agricult., 2, 1894, p. 73. *Kochs Jahresber.*, 1894, p. 99, d'après SABALITSCHKA Th. und TIETZ, cf. 491.
576. YERSIN (A.). — De l'action de quelques antiseptiques et de la chaleur sur le bacille de la tuberculose. *Ann. Inst. Pasteur*, 2, 1888, p. 60.
577. YUMIKARA (S.). — Osmose in wässerigen Gel ohne und mit Lipoidzusatz. *Biochem. Zschr.*, 157, 1925, s. 371.

TABLE DES MATIERES

	PAGES
AVANT-PROPOS	9
PREMIERE PARTIE	
INTRODUCTION	17
CHAPITRE PREMIER. — ACIDES SALICYLIQUES HALOGÉNÉS	19
I. — Acide 5-chlorosalicylique	19
5-chlorosalicylates de méthyle et d'éthyle.....	22
II. — Acide 3-5-dichlorosalicylique	26
3-5-dichlorosalicylate de méthyle	29
III. — Acide 5-bromosalicylique	30
Esters méthylique et éthylique de l'acide	
5-bromosalicylique	35
IV. — Acide 3-5-dibromosalicylique	36
Esters méthylique et éthylique de l'acide	
3-5-dibromosalicylique	39
V — Acide 5-iodosalicylique	40
5-iodosalicylate de méthyle	43
VI. — Acide 3-5-diiodosalicylique	44
3-5-diiodosalicylate de méthyle	45
CHAPITRE II. — ALDÉHYDES SALICYLIQUES HALOGÉNÉS	47
I. — Aldéhyde 5-chlorosalicylique	47
II. — Aldéhyde 3-5-dichlorosalicylique	49
III. — Aldéhyde 5-bromosalicylique	50
IV. — Aldéhyde 3-5-dibromosalicylique.	52
V. — Aldéhyde 5-iodosalicylique	54
VI. — Aldéhyde 3-5-diiodosalicylique	55

	PAGES
CHAPITRE III. — SALIGÉNOI ET SALIGÉNOLS HALOGÉNÉS	57
A. — Saligénoi	57
B. — Saligénols halogénés	61
I. — 5-chlorosaligénoi	62
II. — 3-5-dichlorosaligénoi	66
III. — 5-bromosaligénoi	66
IV. — 3-5-dibromosaligénoi	70
V. — 5-iodosaligénoi	71
VI. — x-x-diiodosaligénoi	73
Conclusions de la première partie	74

DEUXIEME PARTIE

INTRODUCTION	77
Principaux facteurs conditionnant l'action antibactérienne des substances chimiques	77
Mode d'action des désinfectants sur les microorganismes.	79
Premier temps : Fixation du désinfectant sur la couche limitante du protoplasma	79
Influence de la tension superficielle et de l'adsorption	79
Influence de la concentration en ions hydrogène et de l'état de dissociation	83
Deuxième temps : Pénétration du désinfectant dans l'in- térieur de la cellule	85
Influence de la solubilité dans les lipides	85
Influence de l'osmose	88
Troisième temps : Action du désinfectant sur les cons- tituants de la cellule	89
Conclusion	91
Plan de la deuxième partie	93
CHAPITRE PREMIER. — NOTIONS GÉNÉRALES CONCERNANT L'IN- FLUENCE DE LA CONSTITUTION CHIMIQUE SUR LE POUVOIR DÉSINFECTANT DES SUBSTANCES PHÉNOLIQUES	95
I. — Dérivés non halogénés	95
A. — Benzène	95
Homologues du benzène	96

	PAGES
B. — Phénol	97
Action antigénétique	97
Action antibiotique	98
Formes végétatives	98
Formes sporulées	99
C. — Polyphénols	100
D. — Alkylphénols	103
Influence de la longueur de la chaîne alkylée..	103
Influence de la structure de la chaîne alkylée..	106
Influence du nombre des substitutions alkylées..	107
Influence de l'isomérisie de position	108
E. — Esters phénoliques	110
F. — Acide benzoïque	111
Action antigénétique	112
Action antibiotique	114
G. — Acide salicylique	115
Action antigénétique	115
Action antibiotique	119
Influence de la salification de la fonction acide	120
H. — Isomères de l'acide salicylique : Acides m- et	
p-oxybenzoïques	122
Influence de l'introduction d'un deuxième et	
d'un troisième oxyhydroyles dans le noyau	
des acides monooxybenzoïques	123
I. — Esters des acides phénols	123
Influence de l'estérification de la fonction acide	
des acides oxybenzoïques	123
Influence de la partie acide de la molécule....	124
Influence de la nature du radical alkyle estéri-	
fiant la fonction acide	125
Formation de dérivés sodés	125
Hypothèse tendant à expliquer l'influence de	
l'estérification sur le pouvoir anti-micro-	
bien	126
Influence de l'introduction d'un deuxième oxy-	
dryle dans les esters p-oxybenzoïques....	126
Influence de l'éthérification de la fonction phénol	
des acides-phénols et de leurs esters	127
Influence de la glucosidification de la fonction	
phénol	127

	PAGES
J. — Aldéhyde benzoïque	128
K. — Alcool benzylique	129
L. — Aldéhyde salicylique	129
M. — Alcool salicylique	130
II. — Dérivés halogénés	131
Influence de l'halogénéation sur le pouvoir antimicro-	
bien des corps phénoliques	131
A. — Carbures benzéniques halogénés	131
B. — Phénols halogénés	132
Influence de la qualité de l'halogène	133
C. — Alkylphénols halogénés	134
Influence de l'introduction d'un alkyle dans les	
halogénophénols	134
Influence de l'isomérisie de position	135
D. — Acides halogénobenzoïques	137
E. — Acides oxybenzoïques halogénés	137
Acides salicyliques halogénés	138
F. — Esters des acides phénols halogénés	139
CHAPITRE II. — MÉTHODES D'ESSAI DES DÉSINFECTANTS.....	143
Facteurs influençant la détermination du pouvoir anti-	
microbien	145
Techniques proposées pour la détermination du pouvoir	
antimicrobien des substances chimiques	147
I. — Méthodes donnant des résultats en valeurs relatives	148
A. — Méthode de Rideal et Walker	148
B. — Modifications apportées à la méthode de Rideal	
et Walker	150
1°) Espèce bactérienne choisie comme témoin..	151
2°) Composition du milieu de contact et in-	
fluence des matières organiques	152
3°) Durée du contact	153
4°) Température de l'essai	154
5°) Milieu de subculture	154
6°) Calcul du coefficient phénol	155
C. — Critique des méthodes du coefficient phénol..	156
II. — Méthodes d'essai des désinfectants donnant des ré-	
sultats en valeurs absolues.....	157
a) Préparation des milieux de culture	159
b) Conditions de la culture des germes	161
c) Préparation des suspensions microbiennes.....	162
d) Méthode utilisée pour la numération des germes..	163

A. — Détermination de la valeur antibiotique d'un désinfectant par la méthode « directe »	165
Définition du <i>pouvoir</i> antigénétique et du <i>pouvoir</i> antibiotique	166
a) Conditions de l'essai antigénétique	166
b) Conditions de l'essai antibiotique	167
Nombre de germes à mettre en expérience.....	168
Temps de contact	168
Quantité de germes à transporter dans la sub-culture	168
Evaluation de la validité de l'essai	169
c) Conduite de l'essai antibiotique	170
d) Détail d'une expérience : Détermination de l'activité antimicrobienne de l'acide 5-chlorosalicylique par la méthode « directe »	171
Détermination de la dose antigénétique de l'acide 5-chlorosalicylique	172
Détermination de la dose antibiotique de l'acide 5-chlorosalicylique	173
B. — Détermination de la valeur antibiotique d'un désinfectant par la méthode par centrifugation	174
a) Conduite de l'essai	175
b) Détail d'une expérience : Détermination de la dose antibiotique de l'acide 5-chlorosalicylique par la méthode par centrifugation	176
 CHAPITRE III. — ACTION ANTIMICROBIENNE DES ACIDE, ALDÉHYDE ET ALCOOL SALICYLIQUES ET DE LEURS DÉRIVÉS HALOGÉNÉS. RÉSULTATS PERSONNELS	
Observation préliminaire : Mode de solubilisation des dérivés étudiés	180
A. — Doses et pouvoirs antigénétiques des acide, aldéhyde et alcool salicyliques et de leurs dérivés halogénés vis-à-vis du <i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> et du <i>Bacillus subtilis</i>	184
B. — Doses et pouvoirs antibiotiques des acide, aldéhyde et alcool salicyliques et de leurs dérivés halogénés déterminés par la méthode « directe »	188
Discussion des résultats fournis par la méthode « directe »	190

C. — Doses et pouvoirs antibiotiques des acide, aldéhyde et alcool salicyliques et de leurs dérivés halogénés déterminés par la méthode « par centrifugation »	192
Mise en parallèle des résultats obtenus par les deux méthodes	194
Conclusions du troisième chapitre	198

TROISIEME PARTIE

INTRODUCTION	201
Les esters p-oxybenzoïques comme agents de conservation. Travaux de Th. Sabalitschka	202
Propriétés des esters p-oxybenzoïques	202
Action physiologique	205
Applications pratiques	206
CHAPITRE PREMIER. — ESSAIS DE CONSERVATION DE DIVERS MILIEUX NATURELS OU ARTIFICIELS AU MOYEN DES ACIDE, ALDÉHYDE ET ALCOL SALICYLIQUES ET DE LEURS DÉRIVÉS HALOGÉNÉS. COMPARAISON AVEC LES P-OXYBENZOATES DE MÉTHYLE ET DE PROPYLE	211
A. — Description et résultats des essais de conservation	215
Tableau n° I. — Eau peptonée	217
Tableau n° II. — Urine	221
Tableau n° III. — Sérum de cheval	224
Tableau n° IV. — Liquide de Raulin	226
Tableau n° V. — Solution tampon pH = 5	231
Tableau n° VI. — Solution d'émétique	233
Tableau n° VII. — Solution de glucose (empêchement des microorganismes)	236
Tableau n° VIII. — Empêchement de la fermentation alcoolique	239
B. — Discussion des résultats	243
Conclusions du chapitre premier	251
CHAPITRE II. — DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ DE QUELQUES DÉRIVÉS SALICYLIQUES HALOGÉNÉS	257
Acide salicylique	258
Acide 5-chlorosalicylique	258

	PAGES
Acide 5-bromosalicylique	259
Acide 3-5-dichlorosalicylique	260
Acide 3-5-dibromosalicylique	260
Aldéhyde salicylique	261
Aldéhyde 5-chlorosalicylique	262
Aldéhyde 5-bromosalicylique	262
Saligénol	263
5-chlorosaligénol	263
5-bromosaligénol	264
p-oxybenzoate de méthyle	264
p-oxybenzoate de propyle	265
CONCLUSIONS	267
BIBLIOGRAPHIE	279
I. — Références concernant la partie chimique	279
II. — Références concernant la partie biologique	279
TABLE DES MATIÈRES	320

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Influence de la nutrition minérale sur la respiration des organismes

Vu et approuvé :

Paris, le 21 Avril 1936.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
Ch. MAURAIN.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.
